

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und
Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Komm. Vorstand: Professor Dr. J. Kalich

**ZUR ERREGUNGSCHEMMENDEN WIRKUNG VON
STEREOMEREN N-(PHENYLALANYL) EPHEDRINEN
UND -NOREPHEDRINEN AN DER
BIOLOGISCHEN MEMBRAN**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
HANS-JOACHIM SERVATIUS
aus
Landscheid

München 1974

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und
Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Komm. Vorstand: Professor Dr. J. Kalich

**ZUR ERREGUNGSCHEMMENDEN WIRKUNG VON
STEREISOOMEREN N-(PHENYLALANYL) EPHEDRINEN
UND -NOREPHEDRINEN AN DER
BIOLOGISCHEN MEMBRAN**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
HANS-JOACHIM SERVATIUS
aus
Landscheid

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät

der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme

Referent: Prof. Dr. A. Petter

Korreferent: Doz. Dr. H. Erbersdobler

Tag der Promotion: 22. Februar 1974



Meinen Eltern gewidmet.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
<u>EINLEITUNG</u>	1
1. Die Feinstruktur der biologischen Membran	4
1.1. Die Kopplung zwischen Proteinen und Lipiden in der biologischen Membran	10
2. Erregungsvorgänge in der Zellmembran	12
2.1. Ruheladung und Ionenverteilung	12
2.2. Erregung und Ionenströme	13
3. Der Einfluß erregungshemmender Substanzen auf die Geschwindigkeit der Erregungsleitung	17
<u>MATERIAL UND METHODIK</u>	19
1. Die chemische Struktur der untersuchten Verbindungen	19
2. Eigene Untersuchungen	21
2.1. Prüfung der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)- ephedrine und -norephedrine auf ihre lei- tungshemmende Wirkung am Froschventrikel- streifen	21
2.2. Versuchspräparat	26
2.2.1. Zusammensetzung der Froschringerlösung	27
2.3. Versuchsanordnung	28
2.4. Versuchsverlauf	29

2.5. Die Bestimmung der Dissoziationskonstanten (pK_s -Wert)	29
2.5.1. Die Berechnung des Ionisationsgrades α	30
2.6. Die Bestimmung des Verteilungskoeffizienten Q	30

ERGEBNISSE 33

1. Die Hemmung der Erregungsleitung LG durch stereoisomere N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine im Froschventrikelstreifen	33
1.1. Hemmwirkung der Substanzen bei pH 7,3	33
1.1.1. Vergleich der Wirkungsstärke der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine anhand ihrer Inhibitorischen Dosis 50 (ID_{50})	46
1.2. Hemmwirkung der Substanzen bei pH 6,4 und 8,2	51
2. Die Bedeutung des Ionisationsgrades α und der prozentualen Ionisation für die Wirksamkeit der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine	69
3. Die Beziehung der Lipoidlöslichkeit und des pK_s zur erregungshemmenden Wirkung bei diastereomeren N-(Phenylalanyl)ephedrinen und -norephedrinen	71

<u>DISKUSSION</u>	76
<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	92
<u>SUMMARY</u>	97
<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	101

EINLEITUNG

Die Aufklärung des Wirkungsmechanismus lokalanästhetisch wirksamer Substanzen war Gegenstand vieler Untersuchungen (9, 10, 12, 54, 60, 82). Ihre Ergebnisse stimmen darin überein, daß die Lokalanästhetica im wesentlichen blockierend in den Erregungsablauf der erregbaren Zellmembran eingreifen. Sie werden dabei vermutlich an reaktive Zentren in den erregbaren Faserstrukturen gebunden. Damit üben sie einen sog. "stabilisierenden Effekt" auf die Membran aus. Es ist bisher jedoch noch nicht gelungen, die molekularbiologischen Vorgänge aufzuklären, die sich bei der Erregungshemmung an der Membran abspielen.

Die Erregungsvorgänge beschränken sich sehr wahrscheinlich auf Proteinstrukturen mit der Aufgabe des Ionentransportes. Es wird angenommen, daß die Konformationsänderung dieser Proteine, die für den passiven Na^+ -Einstrom in die Zelle verantwortlich gemacht wird, während der Erregung durch lokalanästhetisch wirksame Substanzen gehemmt wird (62).

Die Frage, welche funktionellen Gruppen bei der Bindung an die Membranproteine beteiligt sind, läßt sich mit strukturell und sterisch unterschiedlich gebauten, erregungshemmenden Verbindungen prüfen. Eine unterschiedliche Wirk-

- 2 -

samkeit enantiomerer Verbindungen beweist weiterhin eine asymmetrische Membranstruktur als Wirkungsort. Aus diesem Grunde wurden in der vorliegenden Arbeit stereoisomere Verbindungen vom Typ der N-(Phenylalanyl)-ephedrine und N-(Phenylalanyl)norephedrine einer Prüfung auf erregungshemmende Wirkung unterzogen.

HELLENBRECHT, LEMMER, WIETHOLD u. GROBECKER (33) konnten jüngst nachweisen, daß zwischen der leitungshemmenden Wirkung an der Nervenfasern und am Froschventrikelstreifen eine enge Korrelation besteht. Die erregungshemmende Wirkung der oben genannten Verbindungen wurde am Froschventrikelstreifen (*Rana escul.*) untersucht. Dieses Objekt bietet gegenüber der Nervenfasern den Vorteil, daß es keine Diffusionsbarrieren in Form von Epi-, Peri- und Endoneurium besitzt, die zu einer Verfälschung der Ergebnisse bei verschiedenen pH-Werten führen würden. Solche Untersuchungen bei unterschiedlichen pH-Werten erlauben einen guten Einblick in die bei der Verknüpfung von Wirkstoffmolekül und Rezeptorstruktur auftretenden Bindungsverhältnisse.

Weiterhin wurde der Zusammenhang zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der erregungshemmenden Wirkung bei diastereomeren N-(Phenylalanyl)ephedrinen und

N-(Phenylalanyl)norephedrinen untersucht. Eine fehlende Korrelation beider Eigenschaften weist ebenfalls auf eine asymmetrische Membranstruktur als Wirkungsort der Verbindungen hin.

1. Die Feinstruktur der biologischen Membran

Alle Membranen der tierischen Zelle sind im wesentlichen aus Proteinen und Lipoiden aufgebaut (68). GORTER und GRENDEL (30) spreiteten die Lipide von Erythrozytenmembranen in Form von monomolekularen Filmen aus und beobachteten dabei, daß diese einschichtigen Filme für den Aufbau einer Lipiddoppelschicht ausreichen. Dieser Befund führte letztlich zum DAVSON-DANIELLI Membranmodell, der sog. "unit membrane" (17). Danach wird das Zentrum der Membran von einer Doppelschicht von Lipoidmolekülen gebildet, deren hydrophile Gruppen nach außen weisen und auf beiden Seiten von einer monomolekularen, ionogen gebundenen Proteinschicht bedeckt sind. Gestützt werden diese Vorstellungen durch Membranen, die mit Osmiumtetroxid behandelt wurden und elektronenmikroskopisch ein trilaminäres Bild ergeben (73). Die Allgemeingültigkeit dieses Prinzips der Einheitsmembran, die aus sich wiederholenden Einheiten von Lipoproteidmolekülen bestehen soll, wurde von GREEN u. PERDUE (32) vorgeschlagen. Sie betrachten die identischen Untereinheiten als die Funktionseinheiten der entsprechenden Membran.

Diese paucimolekulare Hypothese des Membranmodells von DAVSON und DANIELLI und das "unit membrane"-Konzept werden allerdings in Frage gestellt.

Denn trotz guter elektronenmikroskopischer Darstellbarkeit biologischer Membranen sind Rückschlüsse auf ihre tatsächliche Struktur mit großen Ungewißheiten verbunden. So weisen Membranen des endoplasmatischen Reticulums in elektronenoptischen Aufnahmen eine granuläre Ultrastruktur auf (64), während Leberzellmembranen nach Behandlung mit Äthylendiamintetraessigsäure eine globuläre Struktur zeigen (6). Auch andere Autoren schließen das trilaminare Bild der Membran auf Grund elektronenmikroskopischer Untersuchungen zugunsten einer globulären Struktur aus (25, 48, 49). Zudem deutet die Möglichkeit, Phospholipide durch Detergentien und organische Lösungsmittel vom Proteinanteil zu trennen, darauf hin, daß zwischen Protein und Lipid in erster Linie hydrophobe Bindungskräfte wirksam werden, nicht jedoch, wie im DAVSON-DANIELLI-Modell, Ionenbindungen die Hauptrolle spielen (23, 58).

Direktere Beweise für unpolare Wechselbeziehungen zwischen Membranproteinen und -lipiden resultieren aus IR*- und NMR**-Messungen, die von CHAPMAN, KAMAT u. LEVENCE (14) erbracht worden sind. Das traditionelle Membranmodell, in dem das Protein in β -Konformation über die polare Oberfläche der Lipiddoppelschicht gespreitet ist, läßt jedoch

* = Infrared-Spectroscopy

** = Nuclear Magnetic Resonance-Spectroscopy

solche hydrophoben Wechselbeziehungen aus sterischen und energetischen Gründen nicht zu. Andererseits ist der Proteingehalt in der "unit membrane" so gering, daß er nur mit einer β -Konformation in Einklang gebracht werden kann (74). Es mag dennoch zutreffen, daß manche Membranen in ihrem Aufbau teilweise dem "unit membrane"-Konzept folgen. Wahrscheinlicher jedoch ist die Vorstellung, daß die meisten biologischen Membranen spezifische Komplexe aus Lipoprotein-Untereinheiten enthalten, die sie zu ihren speziellen Aufgaben befähigen (73).

Diese Widersprüche führten zu einem Membranmodell, in dem globuläre Strukturproteine eine hervorragende Stellung einnehmen (29). Wie aus ORD*- und CD**-Messungen hervorgeht, liegen die Membranproteine etwa zur Hälfte α -helikal vor (15, 28, 29, 65). Der Rest des an der Oberfläche liegenden Proteins ist unregelmäßig geknäuelte ("random coil"). Die Membranpeptide befinden sich sowohl an beiden Membranoberflächen als auch im apolaren Innern der Membran. Die in sie eindringenden Proteinsegmente stellen vorwiegend Helices mit hydrophober Außenfläche dar. Sie sind so angeordnet, daß sie Komplexe aus Untereinheiten bilden, welche senkrecht zur Oberfläche

* = Optical Rotatory Dispersion

** = Circular Dichroism

stehen (51).

Die apolaren Aminosäurereste an der äußeren Oberfläche der Untereinheiten bilden spezifische Bindungsstellen für die Kohlenwasserstoffreste der Membranlipide. Deren funktionelle Gruppen können Ionenbindungen mit den an der Oberfläche gelegenen Proteinketten eingehen. Die polaren Aminosäurereste sind so verteilt, daß sie auf der Membranoberfläche liegen oder im Zentrum jeder Untereinheit angeordnet sind. Die asymmetrische Struktur dieser Proteinpfeiler ist für ihre biologische Funktion verantwortlich. Ihre Leitfähigkeit für Ionen wird vom konformativen Zustand der Proteinstruktur bestimmt (Abb. 1). Die komplexe Struktur der Proteine in der Membran hängt auch von ihrer Bindung an die entsprechenden Lipide ab und repräsentiert den Status geringster freier Energie und maximaler Entropie des Systems Protein-Lipid-Wasser (38, 73). Neben den diskutierten hydrophoben Wechselwirkungen üben dabei Wasserstoff-Brückenbindungen und van der Waals'sche Kräfte einen strukturstabilisierenden Einfluß aus (37).

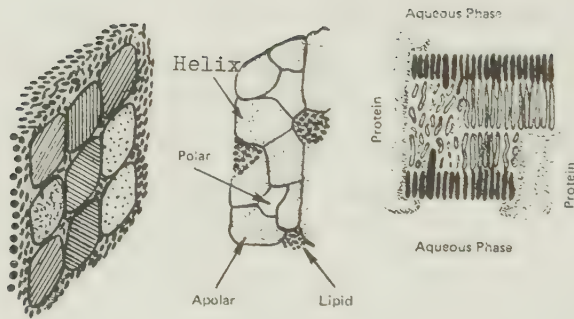


Abb.1: Schematische Darstellung einer biologischen Membran (nach WALLACH, 73). Es sind assoziierte Proteineinheiten dargestellt, die sich aus jeweils vier aneinander gelagerten Helices zusammensetzen. Hydrophobe Proteinbezirke stehen mit Kohlenwasserstoffketten der Lipide () in Wechselwirkung. Die Innenseite der Proteineinheiten ist aus polaren Gruppen aufgebaut; infolge Hydratisierung bilden sich zentrale Wasserkanäle.

Die Annahme einer asymmetrischen Membranstruktur wird gestützt durch die Untersuchungen von SCHMITT (59), die zu dem in Abb. 2 dargestellten Modell führten. Die nicht symmetrische Anordnung der Membranlipide an der äußeren und inneren Oberflächenmembran kommt hier durch die Bindung an Strukturproteine an der Zellaußen- und -innenfläche zustande (73).

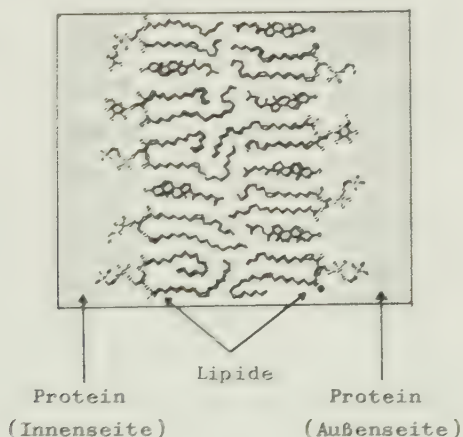


Abb. 2: Schematische Darstellung des Myelins der Nervenmembran (nach SCHMITT, 59). Die Asymmetrie beruht auf der Bindung an Proteine an der äußeren und inneren Grenzfläche.

1.1. Die Kopplung zwischen Proteinen und Lipiden in der biologischen Membran

Nachdem festgestellt wurde, daß der Kontakt zwischen Proteinen und Lipiden in der Photosynthesemembran über Porphyrinringe des Chlorophylls erfolgt, erhob sich die Frage nach dem Mechanismus der Kopplung zwischen Proteinen und Lipiden in den übrigen biologischen Membranen (40). Naturgemäß ist eine Verbindung über Porphyrinringe in Membranen der tierischen Zelle nicht möglich. Es stellt sich jedoch die Frage, ob diese Kopplung einmalig ist, oder ob es sich nur um den Spezialfall eines allgemeinen Prinzips handelt. Es fällt auf, daß die meisten bisher untersuchten Membranen einen gleichbleibenden Anteil von 30% Phosphatidylcholin enthalten. In der Photosynthesemembran dagegen sind nur 1-2% Phosphatidylcholin nachweisbar. Berücksichtigt man weiterhin, daß Phosphatidylcholin unter den Phospholipiden die geringste Konformationsvariabilität besitzt, so rückt es als Anwärter für eine spezielle Struktur Aufgabe an erste Stelle. Auf Grund dieser Erfahrungen wurde ein allgemeines Kopplungsprinzip in Biomembranen postuliert. Phosphatidylcholin übernimmt danach die Funktion der Kopplung zwischen Proteinen und den übrigen Lipiden. Die Verbindung soll in der Weise erfolgen, daß die Fettsäuren des Phos-

phatidylcholins in hydrophobe Wechselwirkung mit den Peptidketten der Proteinschicht treten und daß die Cholingruppe in den Fettsäurebereich der Lipide eindringt. Die Stabilität dieser Kopplungsart wird dadurch gewährleistet, daß einerseits eine hydrophobe Bindung zwischen Fettsäuren und Proteinen besteht, andererseits eine polare Wechselwirkung zwischen der Cholingruppe des kopplenden Phosphatidylcholins und den polaren Gruppen der gekoppelten Lipide hergestellt wird. Die Permeabilität einer solchen, durch Lipoidstrukturen gestützten Membran für nicht lipoidlösliche Verbindungen ist relativ gering. Für lipoidlösliche Stoffe hingegen ist sie gut durchlässig (41).

Bei der Einwirkung von Lokalanästhetica auf Erythrozytenmembranen beobachtete SEEMAN (63) eine Stabilisierung der Zellgrenzflächen gegen hypotone Hämolyse und ein Anschwellen der Membran. In gleichem Sinne äußerte sich BANGHAM (3), der annimmt, daß Lokalanästhetica die bimolekularen Strukturen aus Lipoid-Micellen in der Membran stabilisieren und auf diese Weise ihre Ionenpermeabilität herabsetzen. Beide Phänomene werden als Wechselbeziehung von hydrophoben Molekülanteilen der Lokalanästhetica mit Lipoid- und Lipoproteinschichten gedeutet. Diese Befunde sind für die Wirkungsweise der Lokalanästhetica

jedoch ohne Belang, solange keine quantitativen Zusammenhänge zwischen der erregungshemmenden Wirkung und der Lipoid-Wechselbeziehung bei stereoisomeren Lokalanästhetica nachgewiesen sind. Untersuchungen mit optischen Antipoden, die eine Erregungshemmung unterschiedlichen Ausmaßes an der erregbaren Membran zeigten, deuten eher auf asymmetrisch gebaute Strukturproteine als Wirkungs-ort hin (54).

2. Erregungsvorgänge in der Zellmembran

2.1. Ruheladung und Ionenverteilung

Nerven- und Muskelfasern können als zylindrische Reizleiter aufgefaßt werden (36). Die Stelle, an der sich der Erregungsvorgang abspielt, ist die erregbare Zellmembran, die die Nerven- bzw. Muskelfasern umhüllt. Zwischen der Innen- und Außenfläche der Zellmembran besteht im Zustand der Ruhe eine elektrische Potentialdifferenz, die mit einer feinen Kapillarelektrode, welche einen Durchmesser von weniger als $1\text{ }\mu$ hat, gegen eine außerhalb der Zelle gelegene Bezugs- elektrode abgeleitet werden kann. Nach vorsichtiger Punktion mit einer solchen Mikroelektrode wird ein Potentialsprung registriert; man mißt ein Ruhepotential von zumeist 90 mV. Das Zellinnere

ist hierbei negativ gegen die Außenfläche der Zellmembran geladen. Die Träger der Ladung, die das Membranpotential verursachen, sind im wesentlichen anorganische Ionen. Quantitativ die wichtigsten sind die Kalium- und Natrium-Ionen.

Solange die Faser unerregt ist, pumpt die Zellmembran unter Energieaufwand Natrium-Ionen aus der Zelle heraus und Kalium-Ionen in die Zelle hinein. Durch diesen Pumpmechanismus werden im Zellinneren Kalium-Ionen um das 30fache gegenüber dem extrazellulären Raum angereichert und Natrium-Ionen um etwa das 10fache verdünnt. Im Ruhezustand bleibt die erregbare Membran allein für Kalium-Ionen passiv leitfähig. Da die Kalium-Ionen wegen des Konzentrationsgefälles von innen nach außen diffundieren, entsteht, weil die Anionen aus dem Zellinneren nicht herausdiffundieren können, ein elektrisches Potential. Das Potential wird also ansteigen, je mehr Kalium-Ionen aus der Faser herausdiffundieren können, was vom Konzentrationsunterschied und von der passiven Kalium-Leitfähigkeit der Membran abhängt.

2.2. Erregung und Ionenströme

Dem Zusammenbruch der Ladung, der Depolarisation, liegt eine kurzzeitige und vorübergehend sehr starke Er-

höhung der Na^+ -Leitfähigkeit in der Membran zugrunde. Demzufolge strömen während der Erregung entsprechend ihrem Konzentrationsgefälle Natrium-Ionen passiv von außen in die Zellmembran ein (52). Es entsteht das Aktionspotential. Für die Depolarisationsphase sind möglicherweise zwei voneinander verschiedene Mechanismen verantwortlich (1, 50, 80). Die schnelle Phase resultiert aus einer Vergrößerung der Natrium-Leitfähigkeit der Membran, die langsamere zweite Phase wird hauptsächlich von Calcium-Ionen oder gleichzeitig von Calcium- und Natrium-Ionen getragen (16, 71).

Bei "voltage clamp"-Experimenten wurden von MASCHER und PEPER (43) übereinstimmende Ergebnisse erzielt. Ihnen gelang die Trennung des Einwärtsstromes in zwei Komponenten; der erste schnelle Strom stellt den Natrium-Strom dar. Er ist für den anfänglichen Teil der Depolarisationsphase verantwortlich, während der zweite, langsamere Strom als der Calcium-Strom angesehen wird. Er bedingt den zweiten Teil der Depolarisation und die Plateauphase (5, 57). Die Durchtrittsstelle für den langsamen Strom wird als "slow channel" bezeichnet. Hier besteht vermutlich ein Antagonismus zwischen Natrium- und Calcium-Ionen.

Das Ruhepotential wird nach einer Erregung innerhalb von

200 msec durch selektive Wiederherstellung der Kalium-Leitfähigkeit und den Ausstrom von Kalium-Ionen wiederhergestellt (52). Die Stabilität der Membran im Ruhezustand wird durch die Bindung von Calcium-Ionen an stabilisierende Bindungsstellen der Membranaußenseite aufrechterhalten (7, 26, 44).

Die Erhöhung der Leitfähigkeit für Natrium-Ionen während der Erregung wird auf die Existenz eines speziellen, von der Na^+ -Pumpe verschiedenen, Trägersystems (Natrium-Carrier) zurückgeführt, das die Natrium-Ionen passiv ins Zellinnere transportiert (79). Untersuchungsergebnisse, die REUTER (56) an Herzmuskelpräparaten durch Messung der Natrium- und Calcium-Ströme gewann, stützen die Annahme, daß Na^+ und Ca^{2+} um einen gemeinsamen Carrier an der Membranaußenseite konkurrieren.

Die Existenz eines Carriersystems wird durch jüngste Untersuchungen von WALLACH (73) bestätigt. Mit Hilfe seiner Fähigkeit zur reversiblen Konformationsänderung kann es die Funktion des Kationentransportes ausüben. Seine hohe Spezifität wird in dem ausgeprägten Unterscheidungsvermögen für Ionen deutlich und legt den Schluß nahe, daß es sich um ein an der Membran fixiertes Protein handelt (21, 42). Von Bedeutung dürften in diesem Zusammenhang auch Befunde von VAN BREEMEN et al. (70) sein, die

ebenfalls ein Trägersystem für Na^+ und Ca^{2+} im Muskel und in der Nervenmembran postulieren. Es weist die gleichen Eigenschaften auf wie das erwähnte Carriersystem.

Beim Einsetzen der Depolarisation verbinden sich nach EIGEN und De MAEYER (20) die Natrium-Ionen unter Verdrängung von Ca^{2+} mit dem Carrier. Sie werden dabei innerhalb von 10^{-9} bis 10^{-8} sec durch das Protein von ihrer Hydratationshülle befreit und befinden sich dann, wie in Abb. 3 verdeutlicht, gleichsam in einem "Käfig". Dieser setzt sich vermutlich aus mehreren Polypeptidketten zusammen und sein Verschluß bzw. die Bindung der Natrium-Ionen erfolgt durch eine Konformationsänderung des Proteins (73). Der Ionentransport durch die Lipidphase der Membran wird durch die nach außen gerichteten hydrophoben Seiterketten des Carriers ermöglicht (20).

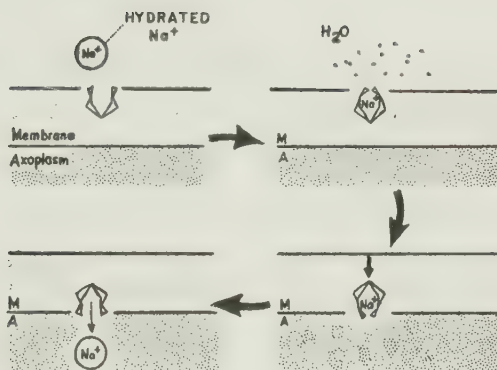


Abb. 3: Schematische Darstellung des Ionentransportes mit Hilfe eines Carrierproteins (nach EIGEN u. DeMAEYER, 20). Nachdem das Na^+ -Ion seine Hydratationshülle verloren hat, wird es von dem Protein, das seine Konformation verändert hat, ins Zellinnere transportiert.

3. Der Einfluß erregungshemmender Substanzen auf die Geschwindigkeit der Erregungsleitung

Die geschilderten Erregungsvorgänge an der Oberflächenmembran werden durch erregungshemmende Substanzen gehemmt und schließlich unterbunden. Verschiedene Möglichkeiten ihrer Einwirkung auf den Erregungsablauf sind zur

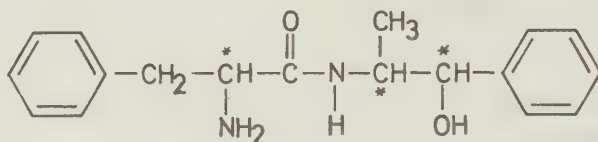
Diskussion gestellt worden. Die Auffassung, daß sie hemmend auf Aktionssubstanzen wie Acetylcholin (46), ATP oder Thiaminphosphat wirken, ist als überholt zu betrachten. Auch eine Beeinflussung von metabolischen Prozessen wird für erregungshemmende Substanzen verneint (81).

Die derzeitigen Untersuchungen zur Erforschung des Mechanismus der Erregungshemmung konzentrieren sich daher auf den passiven Ionentransport, denn der Eingriff der erregungshemmenden Substanzen in die Erregungsfortleitung ist ein Vorgang, der wesentlich schneller abläuft als die Beeinflussung metabolischer Stoffwechselprozesse. Die Beeinträchtigung des aktiven Ionentransportes würde überdies auch zu einem Absinken des Ruhepotentials führen; dieses wird jedoch durch erregungshemmende Wirkstoffe in therapeutischen Dosen nicht verändert (67). Deshalb kann angenommen werden, daß die Wirkstoffe im Ruhezustand Calcium-Ionen von ihrem Bindungsort am Carrier verdrängen. Sie verhindern dadurch die Bindung von Natrium-Ionen im Inneren des Carriers während der Erregung. Die erregungshemmenden Verbindungen werden vermutlich an die hydrophobe Außenseite des Carrierproteins gebunden und stabilisieren dessen Konformation. Auf diese Weise setzen sie die Erregbarkeit der Membran herab (8, 24).

MATERIAL UND METHODIK

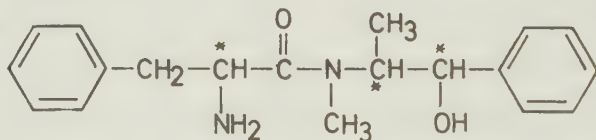
1. Die chemische Struktur der untersuchten Verbindungen

ENDRES (22) synthetisierte erregungshemmende Substanzen vom Typ der N-(Phenylalanyl)ephedrine und N-(Phenylalanyl)norephedrine. In der vorliegenden Arbeit wurden diese Verbindungen am Froschventrikelstreifen (*Rana escul.*) zum Nachweis einer Wechselbeziehung zwischen Wirkstoff und Membranstruktur auf ihre erregungshemmenden Eigenschaften untersucht. Da die Substanzen drei asymmetrische C-Atome besitzen, treten sie in acht stereoisomeren Formen auf, die sich in die Gruppe der L-Phenylalanylephedrine (4a, 5a, 6a, 7a) und in die der D-Phenylalanylephedrine (4b, 5b, 6b, 7b) aufteilen lassen. Die Verbindungen 4a/4b, 5a/5b, 6a/6b, 7a/7b stellen Enantiomere dar, d.h. sie verhalten sich zueinander wie Bild und Spiegelbild. Die Substanzen 1a, 2a, 3a besitzen ebenfalls gleiche Bruttoformeln; sie sind jedoch nicht enantiomer, sondern diastereomer.



Kurzbe-
zeichnung

1a	N-(D-Phenylalanyl)-L-nor-ψephedrin	DL-nor-ψ
2a	N-(L-Phenylalanyl)-L-nor-ψephedrin	LL-nor-ψ
3a	N-(L-Phenylalanyl)-D-norephedrin	LD-nor



Kurzbe-
zeichnung

4a	N-(L-Phenylalanyl)-L-ephedrin	LL
5a	N-(L-Phenylalanyl)-L-ψephedrin	LL-ψ
6a	N-(L-Phenylalanyl)-D-ephedrin	LD
7a	N-(L-Phenylalanyl)-D-ψephedrin	LD-ψ
4b	N-(D-Phenylalanyl)-D-ephedrin	DD
5b	N-(D-Phenylalanyl)-D-ψephedrin	DD-ψ
6b	N-(D-Phenylalanyl)-L-ephedrin	DL
7b	N-(D-Phenylalanyl)-L-ψephedrin	DL-ψ

Die Substanzen werden im Text mit ihren Kurzbezeichnungen bezeichnet. Sie lagen bei der Prüfung als Hydrochloride vor.

* = asymmetrische C-Atome

2. Eigene Untersuchungen

2.1. Prüfung der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)- ephedrine und -norephedrine auf ihre leitungshem- mende Wirkung am Froschventrikelstreifen

Zur Aufklärung der Zusammenhänge zwischen der chemischen Konstitution einer Verbindung und ihrer erregungshemmenden Wirksamkeit bedarf die Wahl der Untersuchungsmethode einer besonderen Sorgfalt.

Bei der Anwendung der Infiltrationsanästhesie am Ganztier z.B., muß unter Umständen mit der Beeinflussung der anästhetischen Wirkung infolge unterschiedlich schnellem enzymatischem Abbau einer Verbindung gerechnet werden (27). Die intrakutane Applikation einer Prüfsubstanz kann eine Verschiebung des osmotischen und ionalen Gleichgewichtes in der Nachbarschaft sensibler Nervenfasern zur Folge haben und so die Reizleitung stören. Damit wird ein unspezifischer anästhetischer Effekt erzeugt (34).

Der Vorteil, den isolierten Ventrikelstreifen des Froschherzens als Prüfmodell zur Untersuchung der erregungshemmenden Wirkung zu benützen, besteht darin, daß die Einwirkung eines Wirkstoffes direkt an der erregbaren Membran gemessen werden kann (2). Diffusionsbehindernde Bindegewebsanteile, wie Epi-Peri- und Endoneurium des Nerven feh-

len hier. Sie könnten bei unterschiedlichen pH-Werten der Prüflösung eine ungleiche Hemmstoffkonzentration in der Biophase am Wirkungsort hervorrufen.

Zahlreiche Befunde der letzten Jahre haben ferner ergeben, daß sich die verschiedenen erregbaren Membrantypen in ihrer Feinstruktur nur geringfügig unterscheiden. Zudem sprechen mehrere Untersuchungen dafür, daß die Erregungsausbreitung in unterschiedlichen Fasertypen gleichartig abläuft (19, 39, 75). Durch Versuche mit Tetrodotoxin (TTX), dem Gift des asiatischen Pufferfisches, das den schnellen Na^+ -Einstrom an verschiedenen erregbaren Strukturen spezifisch hemmt, konnte außerdem gezeigt werden, daß der Erregungsmechanismus an der Herzmuskelfaser mit dem an der Nervenfaser übereinstimmt (75). Überdies konnten HELLENBRECHT, LEMMER, WIETHOLD u. GROBECKER (33), wie bereits erwähnt, kürzlich nachweisen, daß eine gute Übereinstimmung zwischen der leitungshemmenden Wirkung an der Nervenfaser und am Froschventrikelstreifen besteht.

Das Herzmuskelgewebe besteht aus säulen- oder schlauchförmigen Fasern. Die Einzelfasern werden durch Glanzstreifen (*disci intercalares*) voneinander getrennt. Elektronenoptische Aufnahmen zeigen, daß die Glanzstreifen (Abb. 4 u. 5) Verzahnungsstellen zweier Herzmuskelzellmembranen darstellen (31).

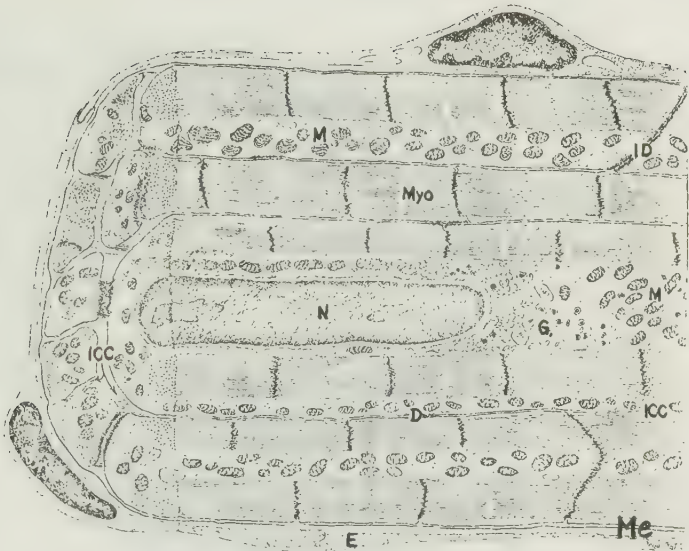


Abb. 4: Räumliches Modell einer Muskelfaser aus dem Froschherzen (nach STALEY u. BENSON, 66)

ID = Glanzstreifen

Myo = Myofibrillen

M = Mitochondrien

N = Nucleus

Me = Erregbare Membran der Herzmuskelfaser

ICC = Interzellularspalt

E = Endothel

D = Desmosomen

G = Golgi-Apparat

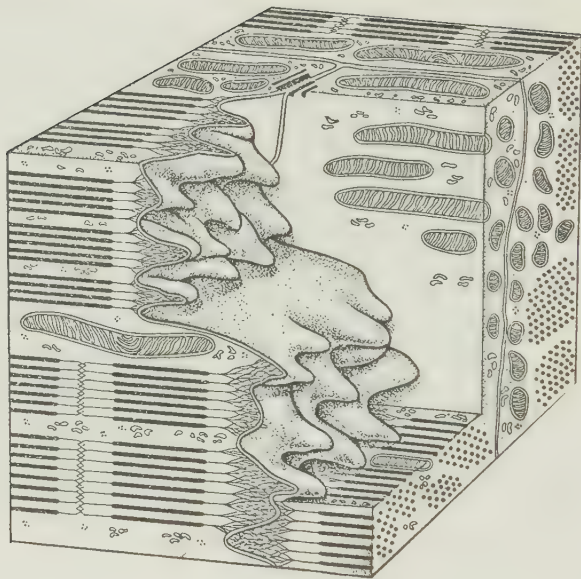


Abb. 5: Schema der Verzahnung zweier Herzmuskelfasern im Bereich der Glanzstreifen (Disci intercalares) nach elektronenoptischen Untersuchungen (Mensch). Die Interscalarscheibe entsteht durch zapfenförmige Verbindung der Zellmembranen zweier benachbarter Herzmuskelzellen (nach STÖHR, von MÖLLENDORF u. GOERTTLER, 69).

Aus Ergebnissen der Elektrophysiologie geht hervor, daß die Glanzstreifen dem Ionenstrom nur einen geringen Widerstand entgegensetzen (76). Benachbarte Zellen sind somit elektrisch miteinander verbunden (Abb. 6) und bilden eine funktionelle Einheit (77). Der Herzmuskel kann demnach als langer Kernleiter mit leitendem Myoplasma - analog dem Neuroplasma des Nerven - aufgefaßt werden.

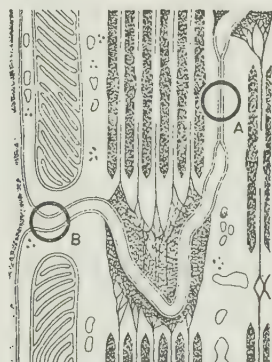


Abb. 6: Kontakt zweier Herzmuskelzellmembranen:
bei A sind die beiden Membranen miteinander verschmolzen und stellen so eine funktionelle Einheit dar. Bei B sind sie durch den Extrazellularraum voneinander getrennt (nach WEIDMANN, 78).

Zur Prüfung der N-(Phenylalanyl)ephedrine und N-(Phenylalanyl)norephedrine auf ihre erregungshemmende Wirkung wurde die Geschwindigkeit der Erregungsleitung LG und ihre prozentuale Änderung unter der Einwirkung der Hemmstoffe gemessen. Zusätzlich wurden die Substanzen bei verschiedenen pH-Werten geprüft. Ihre Ergebnisse erlauben Aussagen über die wirksame Form (BH^+ oder B) des Wirkstoffmoleküls, sowie über die bei der Verknüpfung mit der Membranstruktur beteiligten Gruppierungen.

Für die statistische Auswertung wurde der Mittelwert ($\bar{x}$) der prozentualen Änderung der LG mit seinem mittleren Fehler ($s_{\bar{x}}$) bestimmt. Die unterschiedliche Wirksamkeit der N-(Phenylalanyl)ephedrine und N-(Phenylalanyl)norephedrine wurde mittels t-Test nach Student auf ihre Signifikanz geprüft. Voraussetzung für die Anwendung des t-Testes ist die Gleichheit der Varianzen in den Grundgesamtheiten. Die Überprüfung mit dem F-Test ergab insgesamt keinen Hinweis auf Varianzunterschiede. Somit war die Anwendung des t-Testes berechtigt (13, 18).

2.2. Versuchspräparat

Aus dem isolierten Ventrikel von *Rana esculenta* wurden in spiralförmiger Schnittführung, von der Herzbasis zur Spitze verlaufend, Streifen von 3-5 cm Länge und 1-2 mm Brei-

te angefertigt. Die spongiösen Muskelanteile, sowie das Reizbildungsgewebe wurden entfernt, um eine Eigen-
erregung der Präparate zu verhindern. Die Streifen wur-
den sodann 30-40 min, bis zum Versuchsbeginn, in einem
mit Froschringerlösung gefüllten Gefäß aufbewahrt, das
mit Sauerstoff durchperlt war, um ihre Erholung vom Ein-
griff des Präparierens zu ermöglichen.

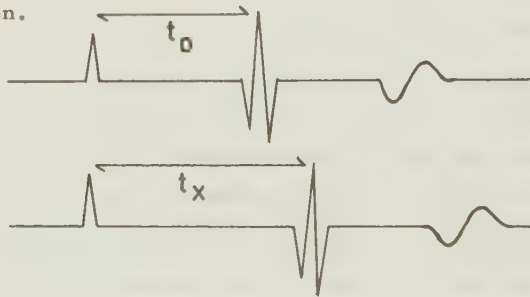
2.2.1. Die verwendete Froschringerlösung hatte folgende
Zusammensetzung:

NaCl	6,0 g
KCl	0,2 g
CaCl ₂	0,12 g
Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	0,5 g
Glucose	1,0 g
Aqua dest.	1000,0 ml

Lösungen, welche für Versuche im pH-Bereich über 7,3
verwendet wurden, enthielten kein Na₂HPO₄ · 2H₂O. An
seiner Stelle wurde der Nährlösung Tris-(hydroxymethyl)-
aminomethan, 0,3 g/l zugesetzt. Die Lösungen wurden mit
0,1 n-HCl auf den gewünschten pH-Wert eingestellt und
anschließend fortlaufend mit Sauerstoff durchperlt.

2.3. Versuchsanordnung

Die Präparate wurden unter Vermeidung von Druck und Zug auf ein im Abstand von 2 cm befindliches Platinreizelektrodenpaar gespannt und sodann mitsamt den Elektroden in ein 50 ml Ringerlösung enthaltendes Gefäß eingetaucht. Das Präparat wurde über die eine Elektrode mit elektrischen Rechteckreizen von 2 msec Dauer im zeitlichen Abstand von 2 sec mit gleichbleibender Stärke über einen elektrischen Stimulator (Firma GRASS) gereizt. Die biphasischen Aktionsströme wurden über die andere Elektrode abgeleitet und mit Hilfe eines EEG-Verstärkers und grafischen Registriersystems (CARDIOSCRIPT, Fa. S.F. SCHWARZER, München) aufgezeichnet. Aus dem Abstand zwischen Reizeinbruch und Reizbeantwortung (t_o bzw. t_x) ließ sich die Geschwindigkeit der Erregungsleitung (LG) bestimmen.



t_o = Zeit für die Erregungsausbreitung entlang 2 cm
v o r Versuchsbeginn.

t_x = Zeit für die Erregungsausbreitung entlang 2 cm
n a c h Einwirkung des Hemmstoffes.

2.4. Versuchsverlauf

Sobald das Präparat in der mit Sauerstoff durchperlten Badlösung (Vol. 50 ml) eine gleichbleibende LG zeigte, wurden in das Badvolumen verschiedene Konzentrationen der zu untersuchenden Wirkstofflösung zugegeben.

In Zeitabständen von 6 min wurde über einen Zeitraum von 30 min die Leitungsgeschwindigkeit LG aufgezeichnet. Von jeder geprüften Konzentration wurden bei dem jeweiligen pH-Wert 7-9 Versuche durchgeführt.

2.5. Die Bestimmung der Dissoziationskonstanten (pK_s -Wert)

Die Dissoziationskonstante (pK_s) gibt nach der HENDERSON-HASSELBALCH'schen Gleichung an, zu welchem Anteil eine Säure BH^+ bei einem bestimmten pH-Wert dissoziiert bzw. undissoziiert vorliegt. Die Bestimmungen wurden titrimetrisch bei einheitlicher Ionenstärke ($\mu = 0,16$, KCl) in wässriger Lösung durchgeführt (TITRIGRAPH SBR 2/ ABU 1; RADIOMETER, Kopenhagen). Die Konzentration der N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine betrug $0,1 \cdot 10^{-3}$ Mol/l. Die Titration erfolgte mit CO_2 -freier $0,1n$ NaOH unter Rühren und N_2 -Begasung, bei einer Temperatur von $20 \pm 1^\circ C$. Zur Bestimmung des pK_s wurde graphisch aus der Titrations-

kurve derjenige pH ermittelt, bei dem die Hälfte der in Lösung befindlichen Substanz BH^+ neutralisiert war.

2.5.1. Die Berechnung des Ionisationsgrades α

Durch die Berechnung des Ionisationsgrades α läßt sich die Frage, wie viele Wirkstoffmoleküle bei einem bestimmten pH-Wert als freie Base (B) oder als Basenkation (BH^+) vorliegen, beantworten. Bei gegebenem pH-Wert und bekanntem pK_s -Wert wird der Ionisationsgrad α nach folgender Gleichung berechnet:

$$\alpha = \frac{1}{1 + 10^{pH - pK_s}}$$

Zur Angabe des Ionisationsgrades in Prozenten wird der Wert α mit 100 multipliziert. Der Wert $\alpha = 0,55$ sagt aus, daß 55% der gelösten Wirkstoffmoleküle als Basenkationen BH^+ vorliegen, während sich 45% der Moleküle als nichtionisierter Anteil B in Lösung befinden.

2.6. Die Bestimmung des Verteilungskoeffizienten Q

Nach dem NERNST'schen Verteilungsgesetz verteilt sich eine gelöste Substanz in zwei nicht mischbaren Phasen, z.B. Chloroform und Wasser, nach Einstellung eines Gleich-

gewichtetes, in einem konstanten Verhältnis. Der Verteilungskoeffizient Q gibt demnach das Verhältnis der Konzentration einer gelösten Substanz in der organischen Phase zur Konzentration in der wässrigen Phase an.

Zur Bestimmung von Q wurden 5-6 mg der betreffenden Substanz in Schüttelröhrchen eingewogen. Als Unterphase wurden 10 ml Chloroform, als Oberphase 10 ml Citratpuffer pH 4,5 (Citratpuffer + Methanol 9:1) hinzugefügt. Sodann wurden die Röhrchen 40mal geschüttelt und anschließend 5 min stehen gelassen. Die organische Unterphase wurde in ein zweites Schüttelröhrchen abgetrennt, mit 5 ml 1n NaOH durchgeschüttelt und die wässrige Phase mit 2mal 10 ml CHCl_3 eluiert. Diese vereinigten Chloroformanteile wurden dann durch ein trockenes 9 cm Filter filtriert und nach Zugabe von 5 Tropfen Indikator (Buttergelblösung) mit 0,01n p-Toluolsulfonsäure bis zum Farbumschlag nach rot auf ihren Basengehalt titriert.

Die wässrige Oberphase wurde mit 5 ml 1n NaOH alkalisiert. Anschließend wurde sie ebenfalls mit 2mal 10 ml CHCl_3 extrahiert, filtriert und nach Zugabe des Indikators mit 0,01n p-Toluolsulfonsäure titriert.

Zur Ermittlung eines Wertes wurden jeweils vier Bestimmungen bei pH 4,5 und einer Temperatur von $20 \pm 1^\circ\text{C}$ durch-

geführt. Der Verteilungskoeffizient Q wurde aus der in der jeweiligen Phase verbliebenen Konzentration an gelöster Substanz C (Mol/l) wie folgt errechnet:

$$Q = \frac{C_{\text{Chloroform}}}{C_{\text{wässrige Phase}}}$$

ERGEBNISSE

1. Die Hemmung der Erregungsleitung LG durch die stereoisomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine im Froschventrikelstreifen

1.1. Hemmwirkung der Substanzen bei pH 7,3

Die stereoisomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine wurden bei pH 7,3 auf ihre erregungshemmenden Eigenschaften am isolierten Ventrikelstreifen von *Rana esculenta* geprüft. Sie zeigen eine unterschiedliche Hemmung der Erregungsleitung. Die LG nimmt in allen untersuchten Fällen in Abhängigkeit von der Konzentration und der Einwirkungszeit ab, bis eine maximale Hemmwirkung erreicht ist (Abb. 7-15 und Tab. 1-3).

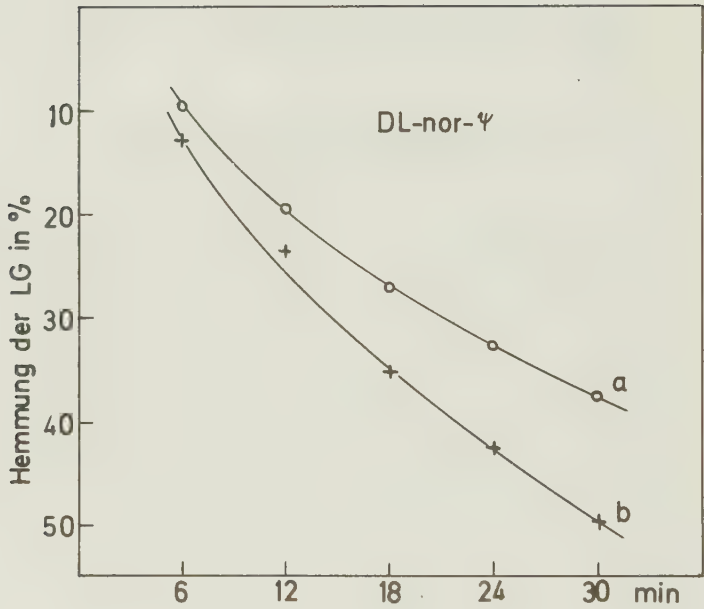


Abb. 7: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von DL-nor- ψ bei pH 7,3.

a: 3,35 $\mu\text{Mol/l}$

b: 6,70 $\mu\text{Mol/l}$

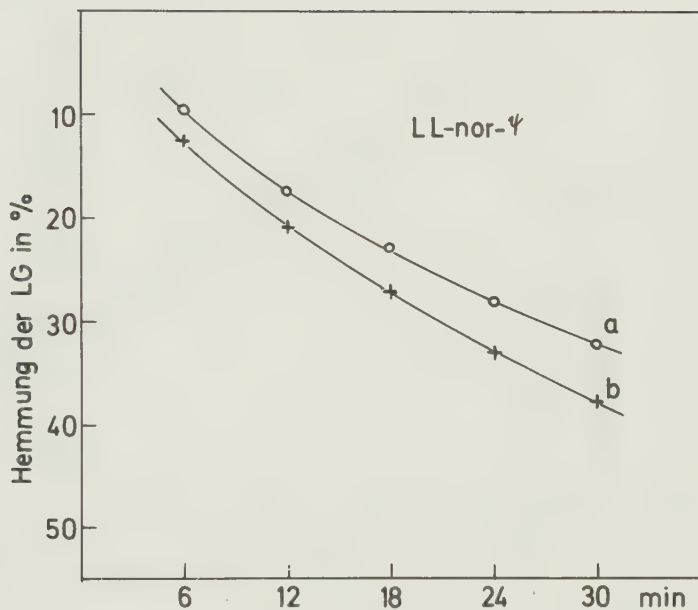


Abb. 8: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von LL-nor- ψ bei pH 7,3.

a: 3,35 $\mu\text{Mol/l}$

b: 6,70 $\mu\text{Mol/l}$

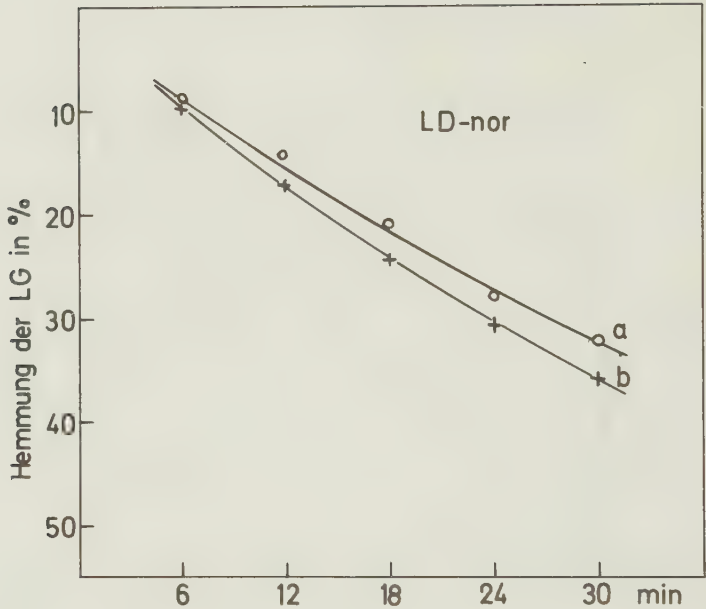


Abb. 9: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von LD-nor bei pH 7,3.

a: 6,70 $\mu\text{Mol/l}$

b: 13,40 $\mu\text{Mol/l}$

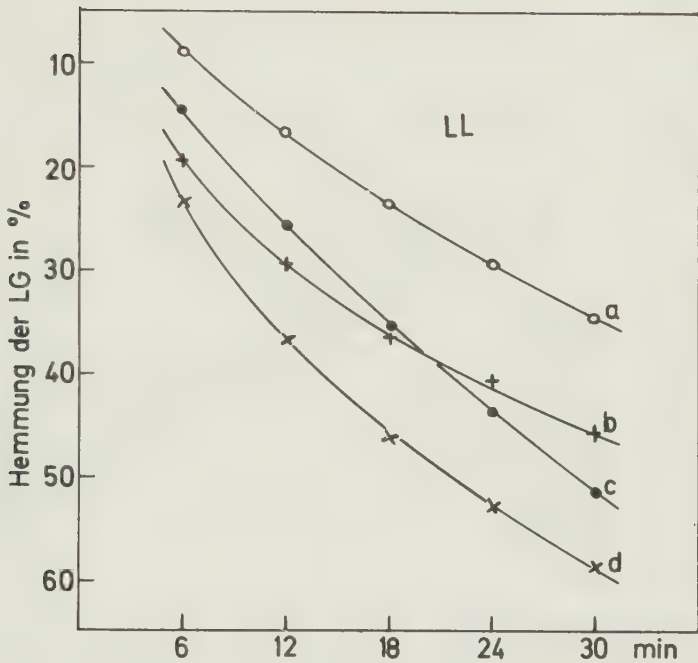


Abb. 10: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von LL bei pH 7,3.

a: 12,80 $\mu\text{Mol/l}$
b: 25,60 $\mu\text{Mol/l}$
c: 38,40 $\mu\text{Mol/l}$
d: 51,21 $\mu\text{Mol/l}$

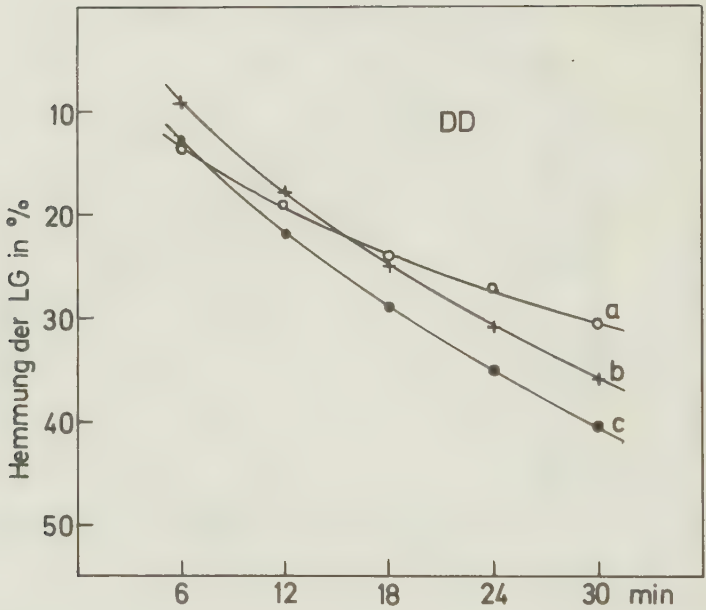


Abb. 11: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von DD bei pH 7,3.

a: 25,60 $\mu\text{Mol/l}$

b: 38,40 $\mu\text{Mol/l}$

c: 51,21 $\mu\text{Mol/l}$

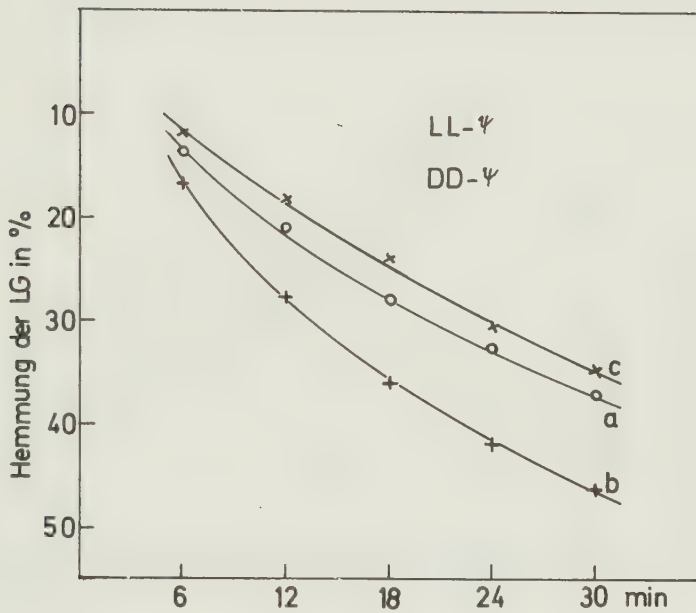


Abb. 12: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von LL- ψ und DD- ψ bei
pH 7,3.

a: 25,60 $\mu\text{Mol/l}$ (LL- ψ)

b: 51,21 $\mu\text{Mol/l}$ (LL- ψ)

c: 25,60 $\mu\text{Mol/l}$ (DD- ψ)

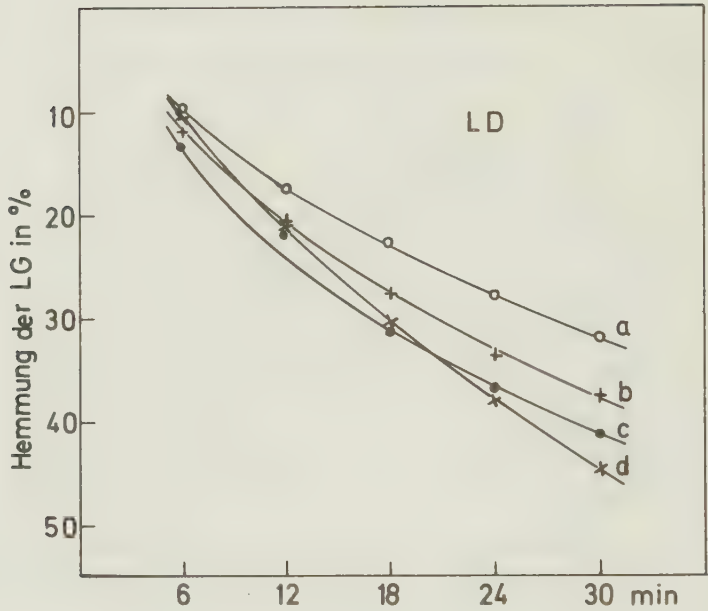


Abb. 13: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von LD bei pH 7,3.

a: 25,60 $\mu\text{Mol/l}$

b: 38,40 $\mu\text{Mol/l}$

c: 51,21 $\mu\text{Mol/l}$

d: 64,01 $\mu\text{Mol/l}$

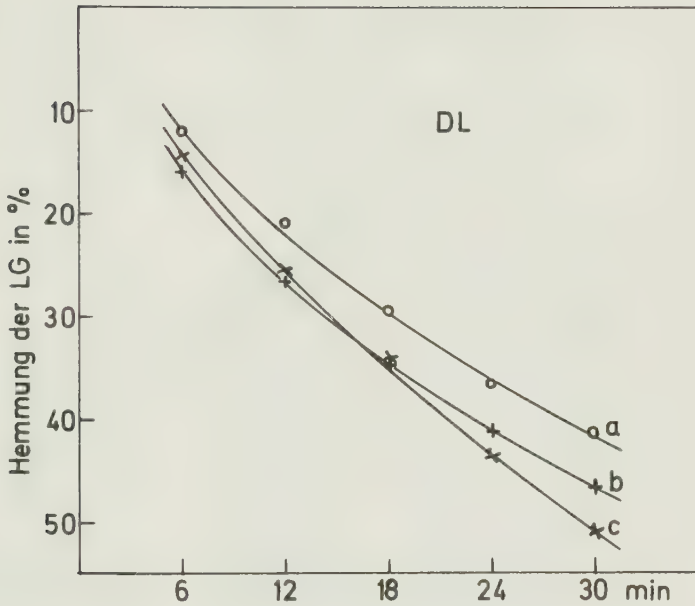


Abb. 14: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von DL bei pH 7,3.

a: 25,60 $\mu\text{Mol/l}$

b: 38,40 $\mu\text{Mol/l}$

c: 51,21 $\mu\text{Mol/l}$

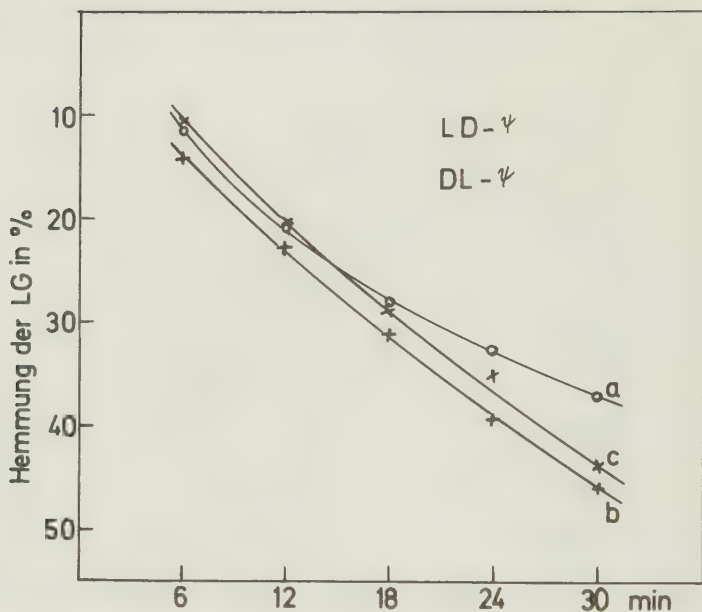


Abb. 15: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) in Abhängigkeit von der Einwirkungs-
dauer unter Einwirkung von LD-Ψ und DL-Ψ bei
pH 7,3.

a: 25,60 μMol/l (LD-Ψ)

b: 51,21 μMol/l (LD-Ψ)

c: 25,60 μMol/l (DL-Ψ)

Tab. 1: Prozentuale Änderung der LG in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer nach Einwirkung diastereomerer N-(Phenylalanyl)norephedrine bei pH 7,3 (Konzentrationen in $\mu\text{Mol/l}$). Mittelwerte ($\bar{x}$) und mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$), $n = 7-9$.

Einw.- Zeit (min)	DL-nor- ψ		LL-nor- ψ		LD-nor	
	3,35	6,70	3,35	6,70	6,70	13,40
6	90,2 $\pm$ 0,4	87,0 $\pm$ 1,1	90,5 $\pm$ 1,1	87,5 $\pm$ 1,0	91,1 $\pm$ 0,8	90,4 $\pm$ 0,8
12	80,6 $\pm$ 1,0	76,5 $\pm$ 1,8	82,6 $\pm$ 1,4	78,8 $\pm$ 1,7	86,0 $\pm$ 1,0	83,1 $\pm$ 1,1
18	72,8 $\pm$ 1,4	64,5 $\pm$ 3,2	77,4 $\pm$ 1,3	72,9 $\pm$ 1,8	79,2 $\pm$ 0,9	75,9 $\pm$ 0,8
24	67,3 $\pm$ 1,0	57,5 $\pm$ 3,4	71,8 $\pm$ 1,5	67,1 $\pm$ 1,6	72,4 $\pm$ 1,0	69,5 $\pm$ 0,8
30	62,6 $\pm$ 0,9	50,1 $\pm$ 3,7	68,1 $\pm$ 1,6	62,6 $\pm$ 1,5	67,6 $\pm$ 1,1	64,6 $\pm$ 0,8

Tab. 2: Prozentuale Änderung der LG in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer nach Einwirkung stereoisomerer N-(Phenylalanyl)ephedrine bei pH 7,3 (Konzentrationen in $\mu\text{Mol/l}$). Mittelwerte ($\bar{x}$) und mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$), $n = 7-9$.

Einwirk- zeit (min)	LL				DD		
	12,80	25,60	38,40	51,21	25,60	38,40	51,21
6	91,2 $\pm$ 0,7	80,3 $\pm$ 1,7	85,6 $\pm$ 0,4	76,3 $\pm$ 1,4	86,6 $\pm$ 0,6	90,7 $\pm$ 0,9	87,1 $\pm$ 0,5
12	83,6 $\pm$ 0,9	70,3 $\pm$ 2,5	74,0 $\pm$ 0,6	63,1 $\pm$ 1,7	80,9 $\pm$ 0,8	82,1 $\pm$ 1,1	78,1 $\pm$ 0,8
18	76,5 $\pm$ 1,0	63,6 $\pm$ 2,8	64,5 $\pm$ 0,9	53,9 $\pm$ 2,0	76,2 $\pm$ 0,6	75,1 $\pm$ 1,2	71,2 $\pm$ 0,8
24	70,4 $\pm$ 0,6	59,6 $\pm$ 3,2	56,2 $\pm$ 0,9	47,2 $\pm$ 2,8	73,1 $\pm$ 0,6	68,8 $\pm$ 1,2	64,8 $\pm$ 0,7
30	65,1 $\pm$ 0,7	53,5 $\pm$ 3,6	48,3 $\pm$ 0,8	41,1 $\pm$ 3,3	69,7 $\pm$ 0,4	63,8 $\pm$ 1,2	59,8 $\pm$ 0,9

Einwirk- zeit (min)	LD				DL		
	25,60	38,40	51,21	64,01	25,60	38,40	51,21
6	90,5 $\pm$ 1,0	88,0 $\pm$ 0,5	86,9 $\pm$ 1,0	89,6 $\pm$ 1,6	87,8 $\pm$ 1,4	83,9 $\pm$ 2,3	85,5 $\pm$ 0,7
12	82,6 $\pm$ 1,2	79,2 $\pm$ 0,8	78,4 $\pm$ 1,9	78,9 $\pm$ 1,8	79,2 $\pm$ 2,3	73,3 $\pm$ 1,9	74,4 $\pm$ 0,7
18	77,6 $\pm$ 1,2	72,4 $\pm$ 1,1	69,0 $\pm$ 1,5	69,7 $\pm$ 1,5	70,5 $\pm$ 2,1	65,4 $\pm$ 1,4	65,4 $\pm$ 1,2
24	72,2 $\pm$ 1,4	66,4 $\pm$ 0,7	63,5 $\pm$ 1,7	62,4 $\pm$ 1,3	63,6 $\pm$ 2,0	58,3 $\pm$ 1,0	56,4 $\pm$ 1,1
30	68,1 $\pm$ 1,6	62,7 $\pm$ 0,6	59,1 $\pm$ 1,8	55,2 $\pm$ 1,2	58,9 $\pm$ 1,8	53,5 $\pm$ 0,9	49,0 $\pm$ 1,0

Tab. 3: Prozentuale Änderung der LG in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer nach Einwirkung stereoisomerer N-(Phenylalanyl)ephedrine bei pH 7,3, (Konzentrationen in $\mu\text{Mol/l}$). Mittelwerte ($\bar{x}$) und mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$), $n = 7-9$.

Einw.-zeit (min)	LL- ψ		DD- ψ		LD- ψ		DL- ψ	
	25,60	51,21	25,60	51,21	25,60	51,21	25,60	51,21
6	86,2 $\pm$ 1,1	83,2 $\pm$ 1,7	88,1 $\pm$ 0,8	86,0 $\pm$ 1,1	88,7 $\pm$ 1,3	86,0 $\pm$ 1,1	89,2 $\pm$ 0,9	86,0 $\pm$ 1,1
12	78,9 $\pm$ 1,4	72,3 $\pm$ 2,0	82,6 $\pm$ 1,4	77,4 $\pm$ 1,4	79,7 $\pm$ 2,1	77,4 $\pm$ 1,4	79,7 $\pm$ 1,8	77,4 $\pm$ 1,4
18	72,0 $\pm$ 1,8	64,0 $\pm$ 2,4	76,2 $\pm$ 1,8	68,8 $\pm$ 1,4	71,8 $\pm$ 2,3	68,8 $\pm$ 1,4	71,5 $\pm$ 2,0	68,8 $\pm$ 1,4
24	67,5 $\pm$ 2,0	58,3 $\pm$ 2,4	69,9 $\pm$ 2,1	60,6 $\pm$ 1,5	67,5 $\pm$ 2,0	60,6 $\pm$ 1,5	64,8 $\pm$ 1,8	60,6 $\pm$ 1,5
30	63,1 $\pm$ 2,2	53,8 $\pm$ 2,5	65,2 $\pm$ 2,3	54,0 $\pm$ 1,2	63,1 $\pm$ 2,1	54,0 $\pm$ 1,2	61,0 $\pm$ 1,6	54,0 $\pm$ 1,2

1.1.1. Vergleich der Wirkungsstärke der stereoisomeren
N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine an-
hand ihrer Inhibitorischen Dosis 50 (ID_{50})

Um die unterschiedliche Wirkungsstärke der Substanzen vergleichen zu können, wurde diejenige Konzentration von jeder Substanz bestimmt, welche die Erregungsausbreitung nach 30 min um die Hälfte vermindert (Inhibitorische Dosis 50 = ID_{50}). Zu diesem Zweck wurden die gefundenen Wirkungsprozentwerte und die zugehörigen Wirkstoffkonzentrationen in ein Wahrscheinlichkeitsnetz aufgetragen. Am Beispiel von LL/DD und LD/DL sind die zugehörigen Dosis-Wirkungskurven in den Abbildungen 16 und 17 wiedergegeben. Für die restlichen untersuchten Verbindungen wurden die ID_{50} -Werte analog ermittelt. Zur Bestimmung der ID_{50} wurde die Hemmwirkung der N-(Phenylalanyl)-ephedrine und -norephedrine bei jeweils drei bzw. vier Konzentrationen untersucht. Da sich die gefundenen Hemmwerte auf einer Geraden anordneten, kann eine lognormale Verteilung als gegeben angenommen werden. Die Inhibitorische Dosis 50 (ID_{50}) wurde deshalb aus der erhaltenen graphischen Darstellung ermittelt, indem auf der Ordinate auf den Wert 50 extra- bzw. interpoliert wurde.

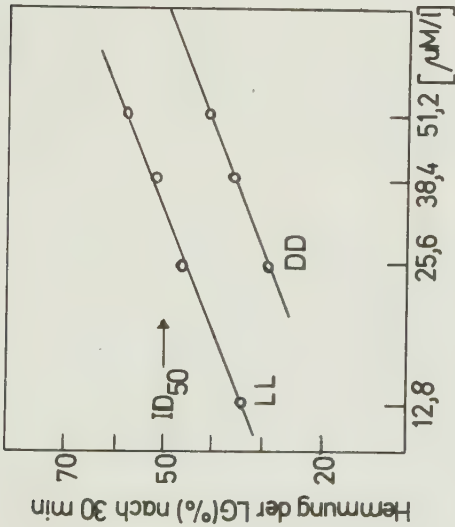


Abb. 16: Abhängigkeit des 30 min Hemmwertes von der Wirkstoffkonzentration bei LL und DD. (pH 7,3)

Hazen-Skala im Wahrscheinlichkeitsnetz.

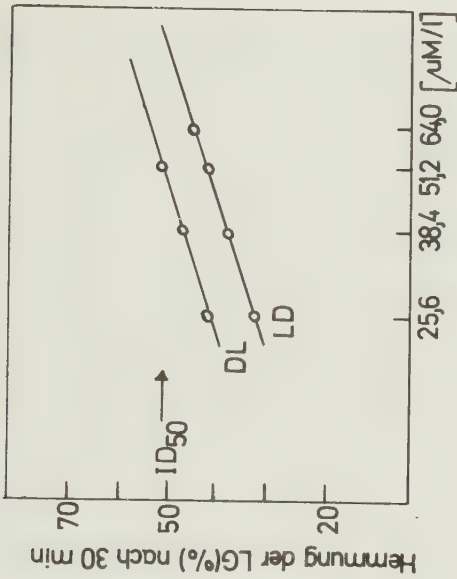


Abb. 17: Abhängigkeit des 30 min Hemmwertes von der Wirkstoffkonzentration bei LD und DL. (pH 7,3)

Hazen-Skala im Wahrscheinlichkeitsnetz.

Bei dem physiologischen pH-Wert von 7,3 ist die ID_{50} der im Aminosäureanteil D-konfigurierten Verbindungen DL und DL- Ψ im Vergleich mit den im Aminosäureanteil L-konfigurierten Antipoden LD und LD- Ψ kleiner; die Substanzen DL und DL- Ψ zeigen somit eine stärkere Wirkung. Bei den Enantiomeren LL/DD ist die im Aminosäureanteil L-konfigurierte Substanz LL stärker wirksam. LL- Ψ unterscheidet sich in seiner Wirkungsstärke von DD- Ψ nicht signifikant (Tab. 5 und 6). Wie aus einem Vergleich der Werte in den Tabellen 4 und 5 hervorgeht, sind die Diastereomeren, DL-nor- Ψ , LL-nor- Ψ den übrigen geprüften Substanzen in ihrer Wirkungsstärke deutlich überlegen. Die im Aminosäureanteil D-konfigurierte Verbindung DL-nor- Ψ zeigt eine signifikant stärkere Hemmung der Erregungsleitung als die L-konfigurierten Isomeren LL-nor- Ψ und LD-nor. Unter den diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen zeigt LD-nor die schwächste Wirksamkeit (Tab. 4 und 7).

Tab. 4: ID₅₀-Werte der diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine bei pH 7,3.

Substanz	ID ₅₀ (μ Mol/l)
DL-nor- ψ	6,8
LL-nor- ψ	31
LD-nor	69

Tab. 5: ID₅₀-Werte der enantiomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine bei pH 7,3.

Substanz	ID ₅₀ (μ Mol/l)
LL	32
DD	91,5
LL- ψ	70
DD- ψ	76
LD	96
DL	49
LD- ψ	71
DL- ψ	50

Tab. 6: Vergleich der unterschiedlichen Hemmwirkung (LG%) der enantiomeren N-(Phenylalanyl)-ephedrine bei pH 7,3 (Konzentration: 25,6 $\mu\text{Mol/l}$). 30 min Hemmwerte (100 - LG%), Mittelwerte ($\bar{x}$), mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$) und Irrtumswahrscheinlichkeit (p), n = 7-9. n.s. = nicht signifikant.

LL	DD	LL- ψ	DD- ψ	LD	DL	LD- ψ	DL- ψ
53,5 $\pm$ 3,6	69,7 $\pm$ 0,4	63,6 $\pm$ 2,0	64,7 $\pm$ 2,2	68,3 $\pm$ 1,5	57,6 $\pm$ 1,1	64,8 $\pm$ 1,9	58,7 $\pm$ 1,1
p < 0,01		n.s.		p < 0,01		p < 0,05	

Tab. 7: Vergleich der unterschiedlichen Hemmwirkung (LG%) der diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine bei pH 7,3 (Konzentration: 6,7 $\mu\text{Mol/l}$). 30 min Hemmwerte (100-LG%), Mittelwerte ($\bar{x}$), mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$) und Irrtumswahrscheinlichkeit (p), n = 7-9.

DL-nor- ψ	LL-nor- ψ	DL-nor- ψ	LD-nor	LL-nor- ψ	LD-nor
50,1 $\pm$ 3,7	62,7 $\pm$ 1,4	50,1 $\pm$ 3,7	68,1 $\pm$ 1,1	62,7 $\pm$ 1,4	68,1 $\pm$ 1,1
p < 0,05		p < 0,01		p < 0,05	

1.2. Hemmwirkung der Substanzen bei pH 6,4 und pH 8,2

Sämtliche N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine hemmen die Erregungsleitung im sauren und im basischen Prüfbereich verschieden stark (Abb. 18-22 und Tab. 13-15). Die Enantiomerenpaare LL/DD, LL- Ψ /DD- Ψ , LD/DL, LD- Ψ /DL- Ψ zeigen bei pH 6,4 und pH 8,2 Wirkungsunterschiede, die in der Mehrzahl der Fälle signifikant sind (Abb. 19-22 und Tab. 8). Der pH-Anstieg von 6,4 auf 8,2 ist mit Ausnahme von LL- Ψ bei allen Substanzen von einer Wirkungszunahme begleitet. Sie ist bei nahezu allen Verbindungen signifikant (Tab. 9 und 9a). Die im Aminosäureanteil D-konfigurierten Substanzen hemmen mit Ausnahme von DD sowohl bei pH 6,4 als auch bei pH 8,2 die Leitungsgeschwindigkeit stärker als die L-konfigurierten Isomeren (Tab. 11 und 12). Aus dem Vergleich der Tabellen 11 und 12 geht hervor, daß DL-nor- Ψ und LL-nor- Ψ auch im sauren und basischen Prüfbereich die Erregungsleitung stärker hemmen, als LL/DD, LL- Ψ /DD- Ψ , LD/DL, LD- Ψ /DL- Ψ . Bei den N-(Phenylalanyl)ephedrinen mußte zur Erzielung einer ähnlichen Hemmwirkung eine etwa 3fach höhere Wirkstoffkonzentration gewählt werden, wie der Vergleich der Abb. 18 mit den Abb. 19-22 zeigt. Unter den N-(Phenylalanyl)norephedrinen besitzt DL-nor- Ψ bei beiden pH-Werten die stärkste erregungshemmende Wirkung, während LD-nor am wenigsten wirksam ist (Tab. 10 und 11).

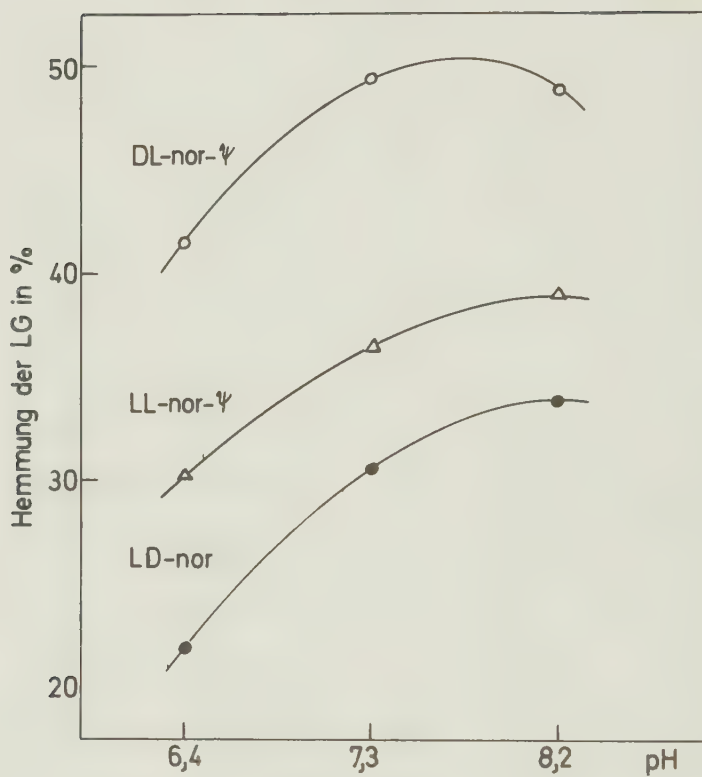


Abb. 18: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) unter Einwirkung von DL-nor- ψ , LL-nor- ψ , LD-nor nach 30 min in Abhängigkeit vom pH der Prüflösung; ($6,7 \mu\text{Mol/l}$).

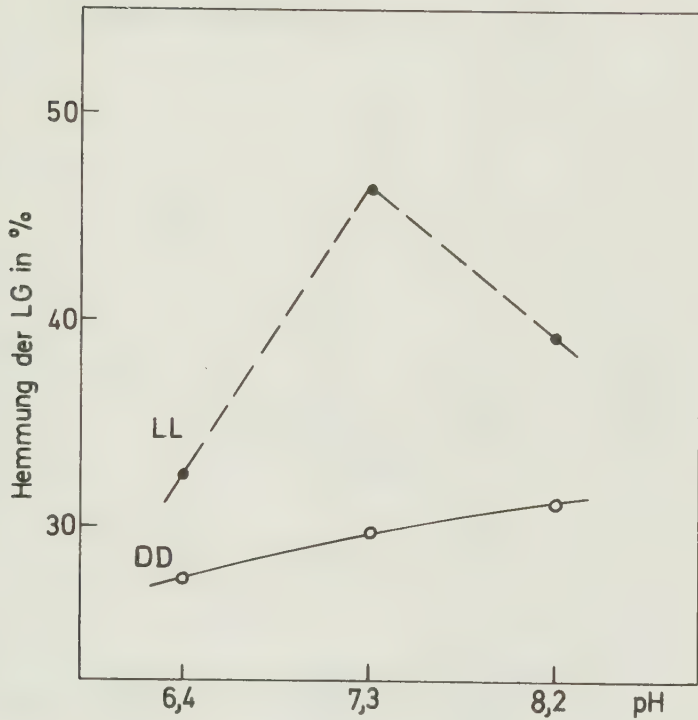


Abb. 19: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) unter Einwirkung von LL/DD nach 30 min in Abhängigkeit vom pH der Prüflösung; ($25,6 \mu\text{Mol/l}$).

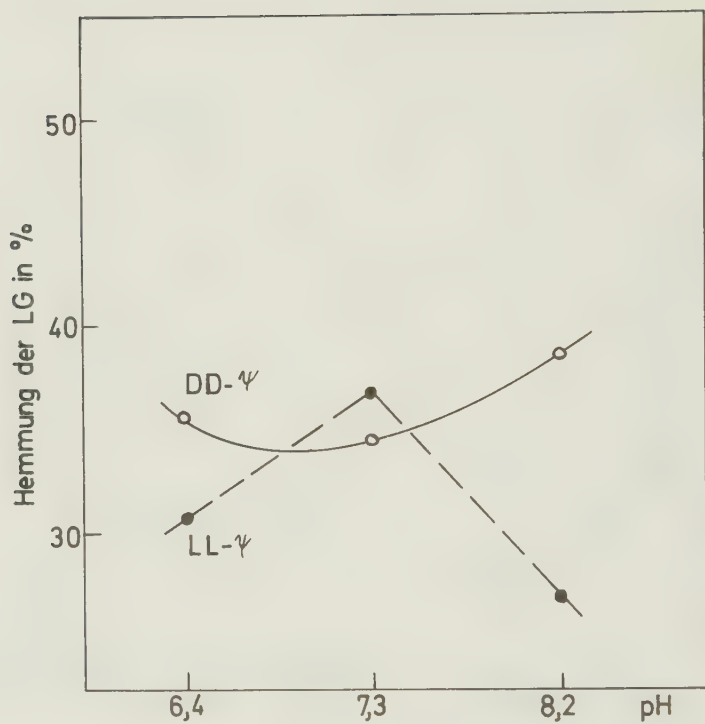


Abb. 20: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) unter Einwirkung von LL-ψ / DD-ψ nach 30 min in Abhängigkeit vom pH der Prüflösung; (25,6 μ Mol/l).

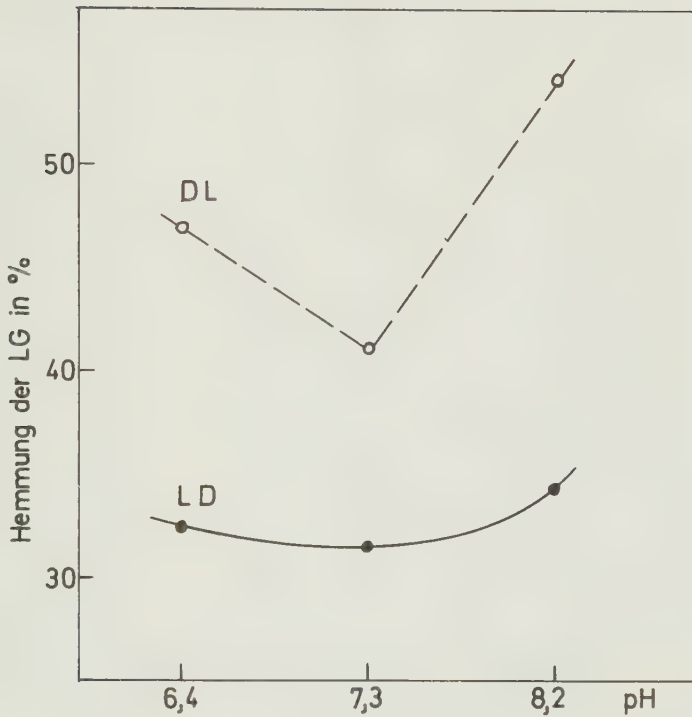


Abb. 21: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) unter Einwirkung von LD/DL nach 30 min in Abhängigkeit vom pH der Prüflösung; ($25,6 \mu\text{Mol/l}$).

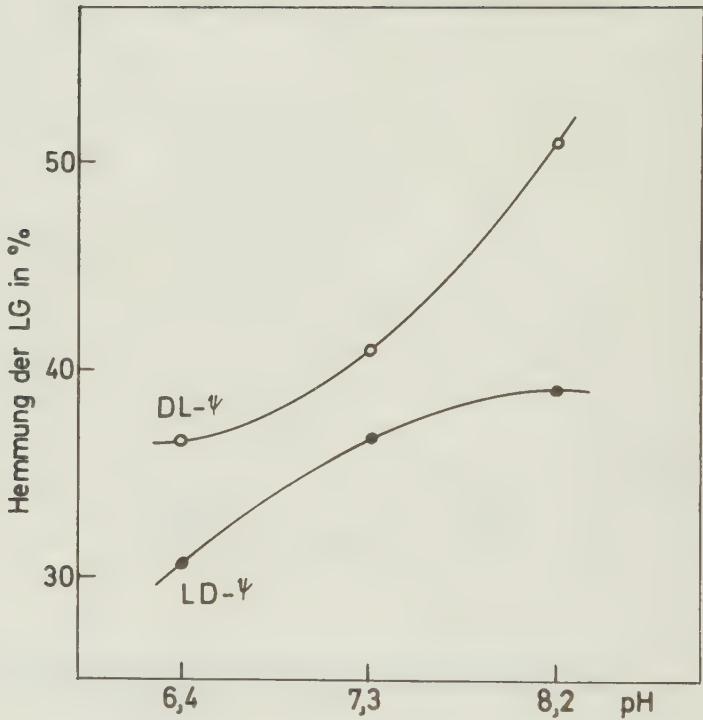


Abb. 22: Prozentuale Hemmung der Leitungsgeschwindigkeit LG (cm/sec) unter Einwirkung von LD-Ψ / DL-Ψ nach 30 min in Abhängigkeit vom pH der Prüflösung; (25,6 μ Mol/l).

Tab. 8: Vergleich der unterschiedlichen Hemmwirkung (LG%) der enantiomeren

N-(Phenylalanyl)ephedrine bei pH 6,4 und pH 8,2 (Konzentration: 25,6 μ Mol/l).
30 min Hemmwerte (100-LG%), Mittelwerte ($\bar{x}$), mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$) und Irrtumswahrscheinlichkeit (p), n = 7-9, n.s. = nicht signifikant.

pH	LL	DD	LL- ψ	DD- ψ	LD	DL	LD- ψ	DL- ψ
	69,1 $\pm$ 2,4	71,1 $\pm$ 1,3	68,5 $\pm$ 2,6	64,0 $\pm$ 1,9	66,8 $\pm$ 2,5	51,6 $\pm$ 0,9	69,6 $\pm$ 0,6	61,1 $\pm$ 0,9
	n.s.		n.s.		p < 0,01		p < 0,01	

pH	LL	DD	LL- ψ	DD- ψ	LD	DL	LD- ψ	DL- ψ
	61,3 $\pm$ 1,5	66,6 $\pm$ 1,7	70,6 $\pm$ 2,0	61,5 $\pm$ 2,2	65,7 $\pm$ 1,7	45,7 $\pm$ 1,4	61,6 $\pm$ 1,6	48,3 $\pm$ 1,9
	p < 0,05		p < 0,01		p < 0,01		p < 0,01	

Tab. 9: Anstieg der Wirksamkeit bei den enantiomeren N-(Phenylalanyl)ephedrinen von pH 6,4 auf pH 8,2 (Konzentration 25,6 $\mu\text{Mol/l}$). 30 min Hemmwerte (100-LG%), Mittelwerte ($\bar{x}$), mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$) und Irrtumswahrscheinlichkeit (p), n = 7-9, n.s. = nicht signifikant.

Substanz	LL	DD	LL- ψ	DD- ψ	LD	DL	LD- ψ	DL- ψ
pH 6,4	69,1 $\pm$ 2,4	71,1 $\pm$ 1,3	68,5 $\pm$ 2,6	64,0 $\pm$ 1,9	70,0 $\pm$ 1,4	50,5 $\pm$ 0,8	69,6 $\pm$ 0,6	62,5 $\pm$ 1,1
pH 8,2	61,3 $\pm$ 1,5	66,6 $\pm$ 1,7	70,6 $\pm$ 2,0	61,5 $\pm$ 2,2	64,7 $\pm$ 1,8	44,9 $\pm$ 0,9	61,2 $\pm$ 1,4	48,0 $\pm$ 1,9
	p < 0,05	n.s.	n.s.	n.s.	p < 0,05	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01

Tab. 9a: Anstieg der Wirksamkeit bei den diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen von pH 6,4 auf pH 8,2 (Konzentration: 6,7 $\mu\text{Mol/l}$). 30 min Hemmwerte (100-LG%), Mittelwerte ($\bar{x}$), mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$) und Irrtumswahrscheinlichkeit (p), n = 7-9.

Substanz	DL-nor- ψ	LL-nor- ψ	LD-nor
pH 6,4	58,2 $\pm$ 0,6	69,0 $\pm$ 1,0	75,8 $\pm$ 1,1
pH 8,2	50,6 $\pm$ 1,2	61,1 $\pm$ 1,2	65,8 $\pm$ 0,9
	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01

Tab. 10: Vergleich der unterschiedlichen Hemmwirkung (LG%) der diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine bei pH 6,4 und pH 8,2 (Konzentration: $6,7 \mu\text{Mol/l}$). 30 min Hemmwerte (100-LG%), Mittelwerte ($\bar{x}$), mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$) und Irrtumswahrscheinlichkeit (p), $n = 7-9$.

Substanz	DL-nor- ψ	LL-nor- ψ	DL-nor- ψ	LD-nor	LL-nor- ψ	LD-nor
pH 6,4	58,2+0,6	69,0+1,0	58,2+0,6	75,8+1,1	69,0+1,0	75,8+1,1
	p < 0,01		p < 0,01		p < 0,01	

pH 8,2	51,3+1,4	61,8+1,2	51,3+1,0	66,1+1,0	61,8+1,2	66,1+1,0
	p < 0,01			p < 0,01		

Um die unterschiedliche Hemmwirkung der N-(Phenylalanyl)-norephedrine und der N-(Phenylalanyl)ephedrine miteinander vergleichen zu können, wurden - wie in den Abb. 16 und 17 für pH 7,3 bereits dargestellt - die ID_{50} -Werte der Substanzen auch für pH 6,4 und pH 8,2 bestimmt. Sie sind in den Tabellen 11 und 12 aufgeführt.

Tab. 11: ID_{50} -Werte der diastereomeren N-(Phenylalanyl)-norephedrine bei pH 6,4 und pH 8,2.

Substanz	ID_{50} ($\mu\text{Mol/l}$)	
	pH 6,4	pH 8,2
DL-nor- ψ	12,5	6,4
LL-nor- ψ	43	20
LD-nor	44	36

Tab. 12: ID₅₀-Werte der enantiomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine bei pH 6,4 und pH 8,2.

Substanz	ID ₅₀ (μMol/l)	
	pH 6,4	pH 8,2
LL	330	45
DD	780	63
LL-ψ	90	80
DD-ψ	64	44
LD	102	76
DL	34	20
LD-ψ	130	52
DL-ψ	80	25

Tab. 13: Prozentuale Änderung der LG in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer nach Einwirkung diastereomerer N-(Phenylalanyl)norephedrine bei pH 6,4 und 8,2 (Konzentrationen in $\mu\text{Mol/l}$). Mittelwerte ($\bar{x}$) u. mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$), $n = 7-9$.

Einwirk- zeit (min)	DL-nor- Ψ (pH 6,4)		DL-nor- Ψ (pH 8,2)	
	3,35	6,70	3,35	6,70
6	89,5 $\pm$ 0,7	88,0 $\pm$ 0,8	89,2 $\pm$ 1,3	88,7 $\pm$ 1,9
12	82,2 $\pm$ 1,2	77,5 $\pm$ 1,3	80,0 $\pm$ 1,3	77,8 $\pm$ 1,9
18	75,6 $\pm$ 1,8	69,3 $\pm$ 1,2	71,1 $\pm$ 1,3	68,0 $\pm$ 1,7
24	69,8 $\pm$ 1,8	62,9 $\pm$ 0,8	65,9 $\pm$ 1,3	59,1 $\pm$ 1,5
30	64,5 $\pm$ 2,3	58,2 $\pm$ 0,6	59,6 $\pm$ 1,3	51,3 $\pm$ 1,4

LL-nor- Ψ (pH 6,4)	
3,35	6,70
93,1 $\pm$ 0,8	90,9 $\pm$ 0,7
88,9 $\pm$ 0,7	85,1 $\pm$ 1,1
83,6 $\pm$ 1,0	79,0 $\pm$ 1,2
78,9 $\pm$ 1,0	73,4 $\pm$ 1,0
74,0 $\pm$ 1,2	69,0 $\pm$ 1,0

Einwirk- zeit (min)	LD-nor (pH 6,4)		LD-nor (pH 8,2)	
	6,70	13,40	6,70	13,40
6	90,4 $\pm$ 0,9	87,4 $\pm$ 1,4	90,9 $\pm$ 1,1	89,4 $\pm$ 1,2
12	85,8 $\pm$ 1,0	79,7 $\pm$ 1,4	83,7 $\pm$ 0,7	80,5 $\pm$ 1,2
18	81,9 $\pm$ 1,1	74,2 $\pm$ 1,3	77,3 $\pm$ 0,7	77,3 $\pm$ 1,2
24	79,3 $\pm$ 0,9	70,2 $\pm$ 1,1	70,9 $\pm$ 0,9	66,9 $\pm$ 1,2
30	75,8 $\pm$ 1,1	66,7 $\pm$ 1,2	66,1 $\pm$ 1,0	61,8 $\pm$ 1,1

LL-nor- Ψ (pH 8,2)	
3,35	6,70
91,1 $\pm$ 0,6	93,2 $\pm$ 1,0
85,3 $\pm$ 0,9	83,6 $\pm$ 0,8
79,4 $\pm$ 1,2	74,3 $\pm$ 1,2
72,7 $\pm$ 1,7	67,2 $\pm$ 1,4
68,6 $\pm$ 2,1	61,4 $\pm$ 1,4

Tab. 14: Prozentuale Änderung der LG in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer nach Einwirkung stereoisomerer N-(Phenylalanyl)ephedrine bei pH 6,4 und 8,2 (Konzentrationen in $\mu\text{Mol/l}$). Mittelwerte ($\bar{x}$) u. mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$), $n = 7-9$.

Einwirk- zeit (min)	LL (pH 6,4)		LL (pH 8,2)		DD (pH 6,4)		DD (pH 8,2)	
	25,60	51,21	25,60	51,21	25,60	25,60	25,60	25,60
6	89,8 $\pm$ 1,2	84,6 $\pm$ 2,1	86,9 $\pm$ 1,2	82,1 $\pm$ 2,0	90,1 $\pm$ 1,7	87,2 $\pm$ 2,1		
12	83,6 $\pm$ 1,5	77,4 $\pm$ 2,7	78,1 $\pm$ 1,1	70,0 $\pm$ 2,4	84,4 $\pm$ 2,0	81,0 $\pm$ 1,9		
18	77,7 $\pm$ 1,7	72,5 $\pm$ 2,7	71,2 $\pm$ 1,4	60,4 $\pm$ 2,7	79,5 $\pm$ 1,9	76,6 $\pm$ 1,8		
24	74,3 $\pm$ 2,1	66,4 $\pm$ 2,3	65,7 $\pm$ 1,5	52,9 $\pm$ 2,6	75,5 $\pm$ 1,6	72,0 $\pm$ 1,6		
30	69,0 $\pm$ 2,4	62,5 $\pm$ 2,4	61,3 $\pm$ 1,5	46,5 $\pm$ 2,8	71,1 $\pm$ 1,3	66,6 $\pm$ 1,7		

Einwirk- zeit (min)	LL-Ψ (pH 6,4)		LL-Ψ (pH 8,2)		DD-Ψ (pH 6,4)		DD-Ψ (pH 8,2)	
	25,60	51,21	25,60	51,21	25,60	25,60	25,60	25,60
6	89,3 $\pm$ 1,9	85,2 $\pm$ 1,2	90,8 $\pm$ 1,2	87,4 $\pm$ 0,9	87,1 $\pm$ 1,5	87,5 $\pm$ 0,8		
12	82,4 $\pm$ 2,0	74,5 $\pm$ 1,8	85,7 $\pm$ 1,1	77,6 $\pm$ 1,0	79,2 $\pm$ 1,9	77,8 $\pm$ 1,2		
18	76,8 $\pm$ 2,3	67,4 $\pm$ 2,1	81,0 $\pm$ 1,5	70,2 $\pm$ 0,9	73,9 $\pm$ 2,1	71,5 $\pm$ 1,8		
24	72,5 $\pm$ 2,5	62,0 $\pm$ 1,8	76,0 $\pm$ 1,5	64,1 $\pm$ 0,9	68,3 $\pm$ 1,8	66,2 $\pm$ 2,0		
30	68,5 $\pm$ 2,6	58,2 $\pm$ 1,8	70,6 $\pm$ 2,0	59,0 $\pm$ 1,0	64,0 $\pm$ 1,9	61,5 $\pm$ 2,2		

Tab. 15: Prozentuale Änderung der LG in Abhängigkeit von der Einwirkungsdauer nach Einwirkung stereoisomerer N-(Phenylalanyl)ephedrine bei pH 6,4 und 8,2 (Konzentrationen in $\mu\text{Mol/l}$). Mittelwerte ($\bar{x}$) u. mittlere Fehler ($s_{\bar{x}}$), $n = 7-9$.

Einwirk- zeit (min)	LD (pH 6,4)		LD (pH 8,2)		DL (pH 6,4)	DL (pH 8,2)
	25,60		51,21			
	25,60		51,21			
6	87,0 ± 1,5		87,5 ± 1,4		86,3 ± 0,9	
12	80,9 ± 1,8		78,9 ± 1,5		74,2 ± 1,5	
18	75,2 ± 2,0		71,0 ± 1,7		65,8 ± 1,7	
24	70,7 ± 2,2		64,8 ± 1,7		57,8 ± 1,3	
30	66,8 ± 2,5		59,5 ± 2,2		51,6 ± 0,9	
					84,3 ± 0,7	
					69,9 ± 1,2	
					59,5 ± 1,6	
					52,2 ± 1,4	
					45,7 ± 1,4	

Einwirk- zeit (min)	LD- Ψ (pH 6,4)		LD- Ψ (pH 8,2)		DL- Ψ (pH6,4)	DL- Ψ (pH8,2)
	25,60	51,21	25,60	51,21		
6	89,6 $\pm$ 0,8	87,8 $\pm$ 1,4	89,1 $\pm$ 0,8	85,8 $\pm$ 0,4	87,8 $\pm$ 0,5	83,2 $\pm$ 1,4
12	83,0 $\pm$ 1,0	78,3 $\pm$ 1,8	81,8 $\pm$ 1,4	73,3 $\pm$ 0,7	77,5 $\pm$ 1,3	70,9 $\pm$ 2,0
18	78,1 $\pm$ 0,7	70,7 $\pm$ 2,0	74,2 $\pm$ 1,5	64,3 $\pm$ 1,0	70,5 $\pm$ 1,3	60,9 $\pm$ 2,5
24	73,0 $\pm$ 0,7	65,4 $\pm$ 1,7	66,4 $\pm$ 1,6	56,7 $\pm$ 1,2	65,6 $\pm$ 1,2	53,8 $\pm$ 2,3
30	69,6 $\pm$ 0,6	61,0 $\pm$ 1,3	61,6 $\pm$ 1,6	50,1 $\pm$ 1,2	62,5 $\pm$ 1,1	48,3 $\pm$ 1,9

Zur Beantwortung der Frage, ob zwischen der Konfiguration im Wirkstoffmolekül und der erregungshemmenden Wirkung ein Zusammenhang besteht, wurden die N-(Phenylalanyl)nor-ephedrine bzw. N-(Phenylalanyl)ephedrine nach abfallender Wirksamkeit geordnet. Eine Wirkungsabstufung der Substanzen anhand ihrer ID_{50} -Werte ergibt bei den N-(Phenylalanyl)-ephedrinen für die vorwiegend in der freien Form vorliegenden Basen B eine andere Reihenfolge als für die kationische Form BH^+ , wie aus den Ergebnissen in Abb. 24 und Tab. 17 hervorgeht. Bei den N-(Phenylalanyl)norephedrinen hingegen ändert sich die Reihenfolge nicht (Abb. 23 und Tab. 16).

Tab. 16: N-(Phenylalanyl)norephedrine, geordnet nach fallender Wirksamkeit (pH 6,4 und 8,2)

	Reihenfolge	1.	2.	3.
	Substanz	DL-nor- ψ	LL-nor- ψ	LD-nor
pH 6,4	ID_{50} ($\mu\text{Mol/l}$)	12,5	43	44
pH 8,2	ID_{50} ($\mu\text{Mol/l}$)	6,4	20	36

Tab. 17: N-(Phenylalanyl)ephedrine, geordnet nach fallender
Wirksamkeit (pH 6,4 und 8,2)

Reihenfolge		1	2	3	4	5	6	7	8
pH	Substanz	DL	DD-Ψ	DL-Ψ	LL-Ψ	LD	LD-Ψ	LL	DD
6,4	ID ₅₀ (μMol/l)	34	64	80	90	102	130	330	780

pH	Substanz	DL	DL-Ψ	DD-Ψ	LL	LD-Ψ	DD	LD	LL-Ψ
8,2	ID ₅₀ (μMol/l)	20	25	44	45	52	63	76	80

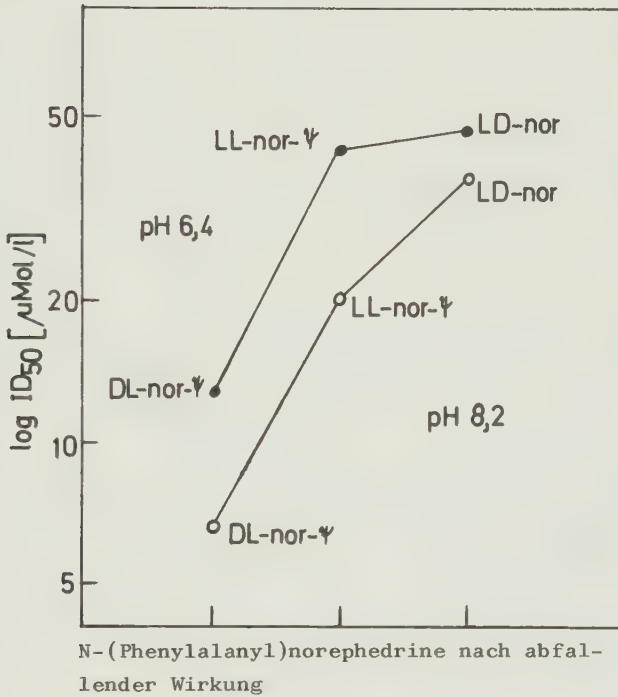


Abb. 23: ID₅₀-Werte der N-(Phenylalanyl)norephedrine für pH 6,4 und 8,2, geordnet nach sinkender Wirkungsstärke (siehe Tab. 16).

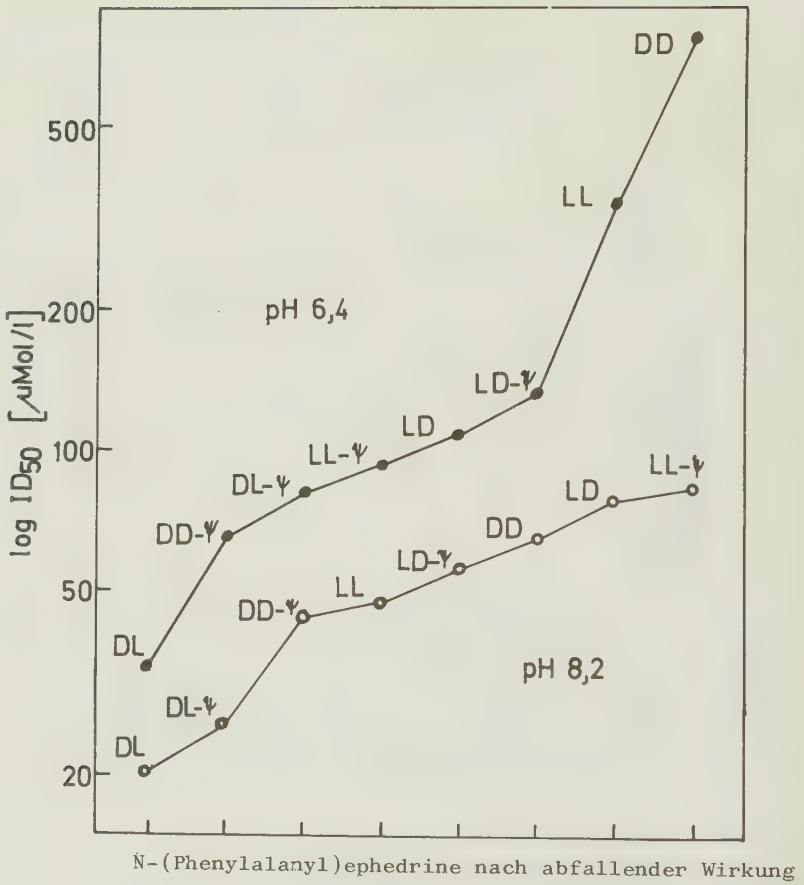


Abb. 24: ID_{50} -Werte der N-(Phenylalanyl)ephedrine für pH 6,4 und 8,2, geordnet nach sinkender Wirkungsstärke (siehe Tab. 17).

2. Die Bedeutung des Ionisationsgrades α und der prozentualen Ionisation für die Wirksamkeit der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine

Die pK_s -Werte der Substanzen liegen, wie aus Tabelle 18 zu entnehmen ist, zwischen 6,94 und 7,51. Somit ergibt sich für pH 6,4 eine prozentuale Ionisation zwischen 79 und 91,5 % als BH^+ . Bei pH 8,2 dagegen, sind die Verbindungen nur noch zu 7-21 -% protonisiert (Tab. 19).

Tab. 18: pK_s -Werte und Ionisationsgrad α (pH 7,3) der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine

Substanz	pK_s	Ionisationsgrad α bei pH 7,3
DL-nor- ψ	7,43	0,574
LL-nor- ψ	7,37	0,545
LD-nor	7,48	0,602
LL DD	7,39	0,554
LL- ψ DD- ψ	7,51	0,621
LD DL	6,94	0,303
LD- ψ DL- ψ	7,30	0,500

Tab. 19: Stereoisomere N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine: Anteil an protonisierter (BH^+) und freier Base (B) bei pH 6,4 und 8,2.

Substanz	pH 6,4		pH 8,2	
	BH^+	B	BH^+	B
DL-nor- ψ	86	14	21,5	78,5
LL-nor- ψ	84	16	16	84
LD-nor	88	12	21	79
LL DD	85,5	14,5	17,5	82,5
LL- ψ DD- ψ	91,5	8,5	20	80
LD DL	79	21	7	93
LD- ψ DL- ψ	87	13	15	85

3. Die Beziehung der Lipoidlöslichkeit und des pK_s zur erregungshemmenden Wirkung bei diastereomeren N-(Phenylalanyl)ephedrinen und -norephedrinen

Weiterhin wurde die Frage untersucht, ob Zusammenhänge zwischen der Lipoidlöslichkeit und dem pK_s -Wert einerseits und der erregungshemmenden Wirkung andererseits bei diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen und N-(Phenylalanyl)-ephedrinen bestehen. Der Verteilungskoeffizient Q der Substanzen ist in Tab. 20 aufgeführt. Die für Q erhaltenen Werte liegen bei den Diastereomeren DL-nor- ψ , LL-nor- ψ , LD-nor zwischen 0,25 und 0,32 und unterscheiden sich damit nur geringfügig voneinander. Bei den N-(Phenylalanyl)-ephedrinen LL/DD, LL- ψ /DD- ψ , LD/DL, LD- ψ /DL- ψ sind die Unterschiede in der Lipoidlöslichkeit etwas deutlicher; die Werte für Q liegen zwischen 0,34 und 1,92. In den Abbildungen 25, 26 und 27 sind Lipoidlöslichkeit und pK_s -Werte der Substanzen in Beziehung zu ihrer ID_{50} dargestellt. Wie ersichtlich, sind aus ihnen jedoch keine Zusammenhänge zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der erregungshemmenden Wirkung zu erkennen. Eine Korrelation zwischen Verteilungsverhalten, pK_s und Erregungshemmung, wie sie für homologe Lokalanästhetica gefunden wurde (11,61), konnte bei den stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen und -ephedrinen nicht nachgewiesen werden. Dies deutet darauf hin, daß als Wirkungsort der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und -ephedrine ein asymmetrischer Bereich innerhalb der Membranstruktur angesehen werden muß.

Tab. 20: Verteilungskoeffizient Q (pH 4,5) der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine und ihre ID_{50} -Werte bei pH 6,4; 7,3 und 8,2. Lösungsmittelsystem: Chloroform/Citratpuffer, pH 4,5/Methanol (10:9:1).

Substanz	Q	ID_{50} ($\mu\text{Mol/l}$)		
		pH 6,4	pH 7,3	pH 8,2
DL-nor- Ψ	0,25	12,5	6,8	6,4
LL-nor- Ψ	0,32	43	31	20
LD-nor	0,29	44	69	36
LL DD	0,34	330 780	32 91,5	45 63
LL- Ψ DD- Ψ	1,92	90 64	70 76	80 44
LD DL	1,42	102 34	96 49	76 20
LD- Ψ DL- Ψ	1,35	130 80	71 50	52 25

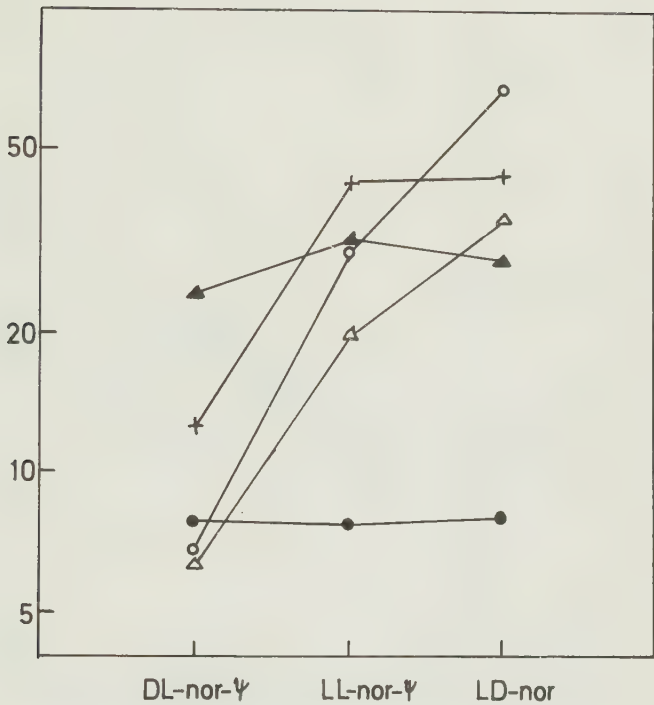


Abb. 25: Zusammenhänge zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften und erregungshemmender Wirkung im Froschventrikelstreifen bei diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen.

+ — + = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 6,4

○ — ○ = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 7,3

Δ — Δ = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 8,2

● — ● = pK_s-Werte der Diastereomeren

▲ — ▲ = Verteilungskoeffizient Q ($\cdot 10^2$) der Diastereomeren

Abszisse: Diastereomere N-(Phenylalanyl)norephedrine

Ordinate: Einheiten für die physikal.-chem.Eigenschaften und die erregungshemmende Wirkung

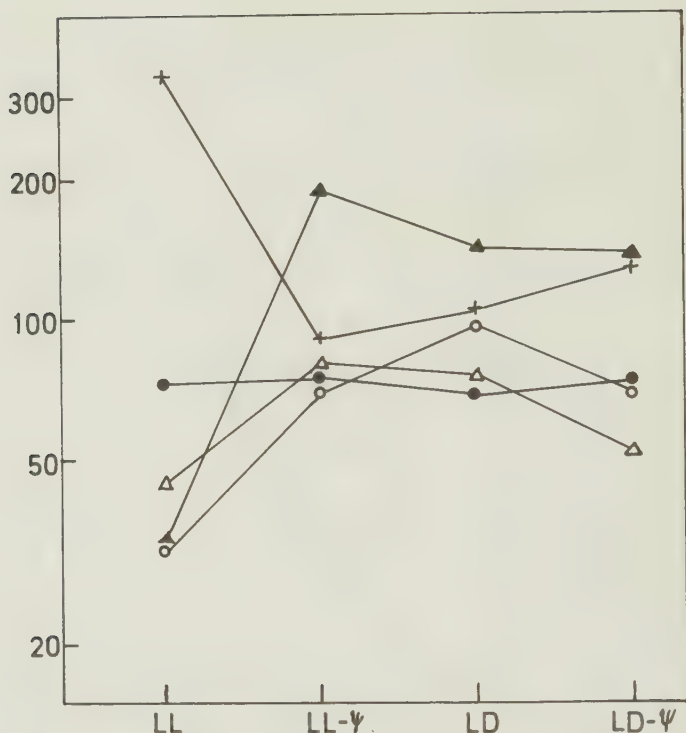


Abb. 26: Zusammenhänge zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften und erregungshemmender Wirkung im Froschventrikelstreifen bei diastereomeren N-(L-Phenylalanyl)ephedrinen.

+ — + = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 6,4

o — o = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 7,3

Δ — Δ = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 8,2

• — • = pK_s-Werte der Diastereomeren (·10)

▲ — ▲ = Verteilungskoeffizient Q (·10²) der Diastereomeren

Abszisse: Diastereomere N-(L-Phenylalanyl)ephedrine

Ordinate: Einheiten für die physikal.-chem. Eigenschaften und die erregungshemmende Wirkung

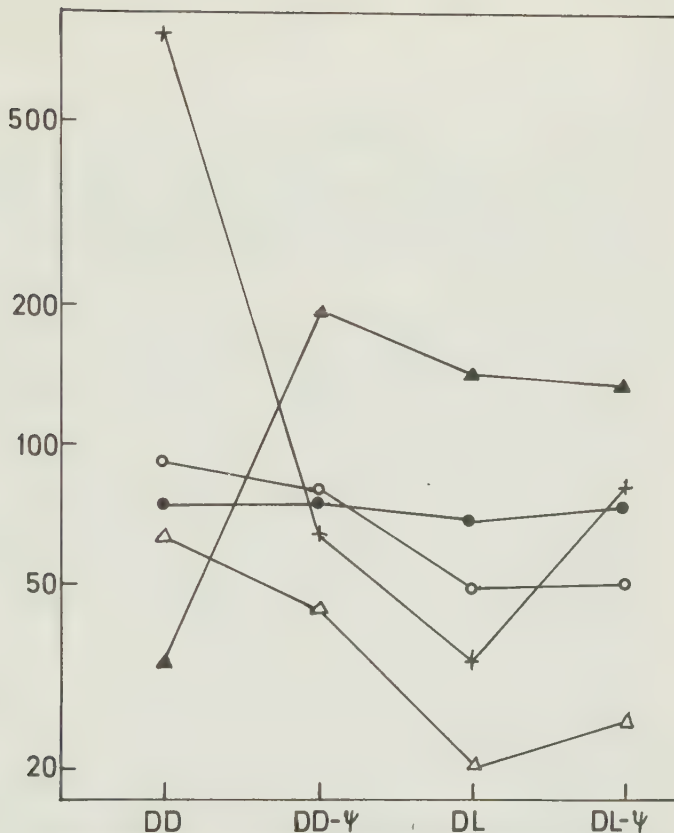


Abb. 27: Zusammenhänge zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften und erregungshemmender Wirkung im Froschventrikelstreifen bei diastereomeren N-(D-Phenylalanyl)ephedrinen.

+ — + = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 6,4

○ — ○ = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 7,3

Δ — Δ = ID₅₀ (μMol/l) bei pH 8,2

● — ● = pK_s-Werte der Diastereomeren (·10)

▲ — ▲ = Verteilungskoeffizient Q (·10²) der Diastereomeren

Abszisse: Diastereomere N-(D-Phenylalanyl)ephedrine

Ordinate: Einheiten für die physikal.-chem. Eigenschaften und die erregungshemmende Wirkung

DISKUSSION

1. Zur Hemmung der Erregungsleitung (LG) durch stereoisomere N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine im Froschventrikelstreifen

Die Oberflächenmembran der erregbaren Fasern ist als Wirkungsort erregungshemmender Substanzen anzusehen. Sie blockieren die Reizübertragung, indem sie die Entstehung des Aktionspotentials hemmen (12). Die Erregungsvorgänge sind vermutlich auf asymmetrische Membranstrukturen (Strukturproteine) mit der Funktion des Ionentransportes beschränkt (73), deren Konformationsänderung während der Erregung wahrscheinlich gehemmt wird (62).

Zum Nachweis einer Wechselbeziehung mit diesen asymmetrischen Membranstrukturen erscheinen Untersuchungen mit stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen und N-(Phenylalanyl)ephedrinen sinnvoll, da eine unterschiedliche Wirkung von enantiomeren Verbindungen und eine fehlende Korrelation zwischen Lipoidlöslichkeit, pK_s und erregungshemmender Wirkung bei diastereomeren Verbindungen auf eine Bindung an asymmetrisch gebaute Strukturproteine hinweisen. Die Wirkung der Substanzen DL-nor- ψ , LL-nor- ψ , LD-nor, LL/DD, LL- ψ /DD- ψ , LD/DL, LD- ψ /DL- ψ auf die Geschwindigkeit der Erregungsleitung (LG) wurde bei pH 7,3 am Froschventrikelstreifen geprüft. Zum Ver-

gleich der unterschiedlichen Wirksamkeit der Substanzen wurde ihre Inhibitorische Dosis 50 (ID_{50}) bestimmt. Die Ergebnisse sind in den Abb. 7-15 und Tab. 1-3 festgehalten. Wie aus ihnen hervorgeht, hemmen sowohl die diastereomeren DL-nor- Ψ , LL-nor- Ψ , LD-nor, als auch die vier Antipodenpaare LL/DD, LL- Ψ /DD- Ψ , LD/DL, LD- Ψ /DL- Ψ die Geschwindigkeit der Erregungsleitung verschieden stark. Unter den diastereomeren N-(Phenylalanyl)norphedrinen zeigt das im Aminosäureanteil D-konfigurierte DL-nor- Ψ eine stärkere Wirkung als die L-konfigurierten LL-nor- Ψ und LD-nor (Tab. 4). Ein Vergleich der Wirkungsstärke der enantiomeren N-(Phenylalanyl)norphedrine ergibt ebenfalls eine höhere Wirksamkeit der im Aminosäureanteil D-konfigurierten Verbindungen DL und DL- Ψ gegenüber den L-konfigurierten optischen Antipoden (Tab. 5). Eine Ausnahme bilden jedoch die Substanzen DD und DD- Ψ . Bei ihnen wirken die L-konfigurierten Isomeren stärker. Die hier beobachteten, mit einer Ausnahme statistisch signifikanten Wirkungsunterschiede (Tab. 4, 5, 6) wurden auch von anderen Autoren zwischen der D- und L-Reihe beobachtet (54).

Die unterschiedlich starke Hemmung der Erregungsausbreitung durch die spiegelbildlich gebauten Wirkstoffmoleküle weist somit darauf hin, daß die N-(Phenylalanyl)norphedrine

Wechselbeziehungen mit asymmetrisch gebauten Strukturproteinen in der erregbaren Membran eingehen. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von BECKETT (4) bei der Untersuchung des Stoffwechselschicksals analgetisch wirkender Isomere (Morphin-Isomere) erzielt. Er führt die Unterschiede in der biologischen Wirkung Enantiomerer ebenfalls auf verschieden hohe Affinitäten zur Rezeptorstruktur zurück. Es kann angenommen werden, daß für das Zustandekommen der Wirkung sowohl die protonisierte Aminogruppe als auch hydrophobe Reste des Wirkstoffmoleküls verantwortlich sind (Abb. 28). Diese Wirkungsweise führt zu einer "Membranstabilisierung", wie sie analog auch durch die Bindung von Calcium-Ionen an zwei anionische Zentren in der Membran erreicht wird (55).

2. Bindungsarten zwischen erregungshemmenden Wirkstoffen und Strukturproteinen der erregbaren Membran

Für die Wechselbeziehung von erregungshemmenden Substanzen mit Strukturproteinen der erregbaren Membran sind verschiedene Bindungsarten von Bedeutung; es kommen in Betracht:

1. Die Ionenbindung, die sich zwischen der geladenen Aminogruppe des Wirkstoffmoleküls (-NH_3^+) und einem anionischen Zentrum in der Proteinstruktur (-COO^-) ausbilden kann;

2. Die Wasserstoff-Brückenbindung, die zwischen zwei Sauerstoffatomen oder einem Sauerstoff- und einem Stickstoffatom auftreten kann. Ihre Bindungsstärke ist geringer als die der Ionenbindung, jedoch stärker als die van der Waals'schen Anziehungskräfte;
3. Die hydrophobe Bindung, die dadurch zustandekommt, daß unpolare Molekülanteile, z.B. Alkyl- oder Aryl-Reste in wässriger Lösung zu assoziieren vermögen (47).

Es kann angenommen werden, daß die Oberfläche der erregbaren Membran Proteine mit großer Konformationsvariabilität enthält. Somit erscheint es wahrscheinlich, daß es nach Zugabe niedermolekularer Verbindungen, welche hydrophobe Gruppierungen enthalten, wie am Beispiel von DL in Abb. 28 dargestellt, zu Beziehungen mit unpolaren Gruppen des Proteins kommt, was zur Stabilisierung seiner Konformation führt (47). Auch Untersuchungen von BÜCHI und PERLIA (12) sowie von BÜCHI und BRUHIN (9) weisen auf die Bedeutung der hydrophoben Bindung bei der Lokalanästhetica-Wirkung hin. Hydrophobe Bindungen werden häufig herangezogen, um Anomalien in der Struktur und Reaktionsfähigkeit eines Proteins zu deuten. Sie gehören außerdem auch zu den Bindungsarten, welche die Konformation eines Proteins wesentlich stabilisieren (41, 47).

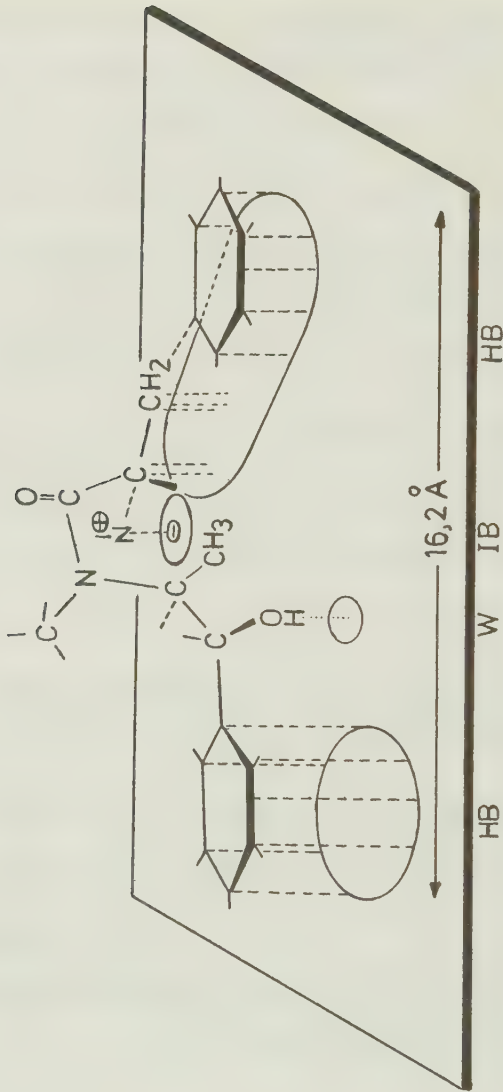


Abb. 28: Wechselbeziehung von stereoisomeren N-(Phenylalanyl)ephedrinen mit der asymmetrischen Membranstruktur am Beispiel von DL. Längen an Dreidungs-Modellen vermessen.

HB = hydrophobe Bindung IB = Ionenbindung W = H-Brückenbindung

2.1. Nachweis der verschiedenen Bindungsarten durch die
Untersuchung der erregungshemmenden Wirkung bei
unterschiedlichen pH-Werten

Der Ventrikelstreifen des Frosches ist zur Untersuchung der erregungshemmenden Wirkung der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine bei verschiedenen pH-Werten gut geeignet, da er, im Unterschied zum Nervenpräparat, keine Diffusionsbarrieren in Form von Epi-, Peri- und Endoneurium enthält. Diese Barrieren würden in der Biophase die Einstellung des gleichen pH-Wertes, wie er im Organbad vorgegeben wird, behindern und, wie bereits erwähnt, zu unterschiedlichen Hemmstoffkonzentrationen am Wirkungsort führen.

Die diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und die enantiomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine wurden am Ventrikelstreifen bei pH 6,4 und 8,2 auf ihre leitungshemmende Wirkung geprüft. Die pK_s -Werte der Substanzen liegen zwischen 6,94 und 7,51 (Tab. 18). Bei pH 6,4 sind sie maximal zu 91,5% und bei pH 8,2 minimal nur noch zu 7% als BH^+ ionisiert (Tab. 19). Sämtliche Verbindungen sind als Kationen und als freie Basen wirksam. Die im Aminosäureanteil D-konfigurierten Verbindungen zeigen mit Ausnahme von DD eine stärkere Wirkung als ihre L-konfigurierten Isomeren (Tab. 11 und 12). Die freien Basen sind mit Ausnahme von LL- ψ in allen Fällen stärker wirksam als die entsprechen-

den kationischen Formen. Ein Vergleich der Wirkungskurven macht Wirkungsunterschiede zwischen den enantiomeren Kationen und den enantiomeren Basen deutlich (Abb. 18-22 und Tab. 8-10). Wie bereits erwähnt, mußte zur Erzielung einer ähnlichen Hemmwirkung bei den N-(Phenylalanyl)-ephedrinen eine etwa 3fach höhere Wirkstoffkonzentration gewählt werden, als bei den N-(Phenylalanyl)norephedrinen.

Diese Feststellungen können folgendermaßen gedeutet werden: Die stärkere Wirkung der im Phenylalanyl-Rest D-konfigurierten Verbindungen weist auf die vorherrschende Rolle des Aminosäureanteils bei der Wechselbeziehung mit den Membranstrukturen hin. Eine Ausnahme bildet lediglich Substanz DD. Bei ihr scheint der Ephedrin-Teil des Moleküls bei der Verknüpfung die wesentlichere Rolle zu spielen. Die bei allen Verbindungen außer LL- Ψ beobachtete, stärkere Wirksamkeit der freien Basenform, welche bei der Mehrzahl der Verbindungen statistisch signifikant im Vergleich zur kationischen Form ist, läßt sich vermutlich auf die energetisch günstigere hydrophobe Wechselbeziehung zur Membranstruktur zurückführen. Die Wirksamkeit aller elf Basen könnte damit erklärt werden, daß die Verbindungen Konformationen einnehmen können, die hydrophobe Wechselbeziehungen über beide Phenylreste des Moleküls

erlauben (s. Abb. 28). Die Feststellung, daß sowohl die enantiomeren Kationen als auch ihre entsprechenden Basen Wirkungsunterschiede zeigen, könnte dahingehend gedeutet werden, daß die Bindung sowohl des Kations als auch der Base an das Rezeptorareal über eine Mehr-Punkte-Beziehung erfolgt (4). Die protonisierten Moleküle werden dabei über Ionenbindungen ihrer geladenen Aminogruppe mit -COO^- Gruppen des Proteins und durch hydrophobe Wechselwirkungen ihrer Kohlenwasserstoffreste mit apolaren Membranbereichen verknüpft. Bei den freien Basen liegen dagegen nur hydrophobe Wechselwirkungen der aromatischen und aliphatischen Reste mit apolaren Kohlenwasserstoffresten der Membranproteine vor. Die Beobachtung, daß sich in der Stärke der Hemmwirkung bei den enantiomeren Kationen bzw. Basen eine andere Reihenfolge ergibt (Abb. 24 und Tab. 16), könnte ihre Erklärung darin finden, daß die Basen bei den Wechselbeziehungen zur Membranstruktur eine für die hydrophobe Bindung günstigere Konformation einnehmen als die entsprechenden kationischen Formen. Die stärkere Wirksamkeit der Basen erscheint damit verständlich. Gleichlautende Befunde wurden auch von ZWEZ (82) erhoben. Die schwächere erregungshemmende Wirkung der enantiomeren Verbindungen im Vergleich zu den diastereomeren N-(Phenylalanyl)-norephedrinen könnte darauf beruhen, daß bei den enantio-

meren N-(Phenylalanyl)ephedrinen die Methylgruppe am Stickstoff des Ephedrins eine sterische Hinderung darstellt. Sie behindert die Annäherung des Moleküls an die Rezeptorstruktur in der Membran, was zu einem Wirkungsabfall führt.

Zusammenfassend läßt sich somit sagen, daß alle geprüften Verbindungen in der protonisierten Form und als freie Basenmoleküle eine Hemmung der Erregungsleitung im Froschventrikelstreifen hervorrufen. Die protonisierten Moleküle werden dabei über Ionenbindungen und hydrophobe Wechselwirkungen mit Strukturen der Membran verknüpft, während die Wechselwirkung der freien Basen mit der Rezeptorstruktur nur über hydrophobe Kräfte erfolgt. Weiterhin verdeutlichen die Ergebnisse (unterschiedliche Wirkung der Enantiomeren), daß die Verbindungen eine Mehr-Punkte-Beziehung, d.h. eine Ionenbindung und hydrophobe Wechselwirkungen eingehen. Der hydrophoben Wechselbeziehung muß sehr wahrscheinlich eine dominierende Rolle eingeräumt werden.

3. Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Lipoidlöslichkeit, pK_s und erregungshemmender Wirkung bei den stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen und N-(Phenylalanyl)ephedrinen

Für den Verteilungskoeffizienten Q wurden Werte zwischen 0,25 und 0,32 für die diastereomeren N-(Phenylalanyl)-norephedrine gefunden. Bei den N-(Phenylalanyl)ephedrinen liegen die Werte für Q zwischen 0,34 und 1,92 (Tab. 20). Die pK_s -Werte der Substanzen liegen zwischen 6,94 und 7,51 und zeigen damit nur geringe Schwankungen (Tab. 18). Daraus geht hervor, daß die Verbindungen sich in den physikalisch-chemischen Eigenschaften nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Dennoch weisen sie ausgeprägte Wirkungsunterschiede am Froschventrikelstreifen auf, wie aus den Abb. 25-27 hervorgeht. Demnach läßt sich also keine Beziehung zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Wirkungsstärke bei den diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen und N-(Phenylalanyl)ephedrinen herleiten, wie sie von homologen Lokalanästhetica-Reihen bekannt ist (11, 61). Gleichlautende Befunde wurden auch von anderen Autoren (53) erhoben, die N-(N-Dimethylphenylalanyl)ephedrine auf Zusammenhänge zwischen Lipoidlöslichkeit und biologischer Wirkung untersuchten. Dieses Fehlen einer Korrelation zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften und erregungshemmender Wirkung

bei den diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrinen und N-(Phenylalanyl)ephedrinen kann somit als weiterer Beweis dafür gelten, daß ihre Wirkung auf einer Wechselbeziehung mit asymmetrischen Strukturen (Strukturproteinen) in der erregbaren Membran beruht. Unterschiede in der Konfiguration der Verbindungen bewirken dabei verschieden starke Wechselbeziehungen zu den asymmetrischen Strukturproteinen und bestimmen damit ihre Wirkungsstärke.

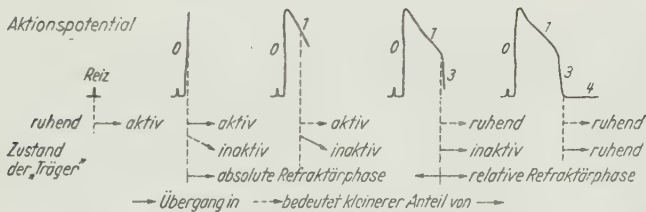
4. Möglicher Wirkungsmechanismus der N-(Phenylalanyl)-norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine im Hinblick auf die Carrier-Theorie der Elektrophysiologie

In den vorhergehenden Abschnitten ist der Wirkungsmechanismus der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine und ihre Bindung an asymmetrische Strukturproteine der erregbaren Membran besprochen worden. Es stellt sich nun die Frage, wie die vorliegenden Ergebnisse mit der Carrier-Theorie der Elektrophysiologie in Einklang zu bringen sind.

Die Geschwindigkeit der Erregungsleitung steht in direkter Beziehung zur Anstiegssteilheit des Aktionspotentials an der erregbaren Herzmuskelzelle. Die maximale Anstiegssteilheit des Aktionspotentials ist nach der Ionentheorie der Erregung ein brauchbares Maß für die Leitfähigkeit

(gNa) der erregbaren Membran für Natrium-Ionen (75). Sie kann auch als Maß für die Größe des Na^+ -Einwärtsstromes während der Erregung angesehen werden. Deshalb kann angenommen werden, daß die N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine, welche die Leitungsgeschwindigkeit herabsetzen, auch die Na^+ -Leitfähigkeit der Membran vermindern und damit den Na^+ -Einwärtsstrom während der Erregung hemmen.

HODGKIN und HUXLEY (35) haben postuliert, daß der Na^+ -Einstrom während der Erregung mit Hilfe eines besonderen Transportsystems (Na-carrying system) erfolgt. Es kann in drei verschiedenen Zustandsformen vorliegen, nämlich in einer aktivierbaren Ruheform, einer aktiven und in einer inaktiven Form (Abb. 29).



29: Schematische Darstellung der Zustandsformen des Na^+ -Transportsystems (nach von MURALT, 45). Nach einer Erregung gehen ruhende Träger sehr schnell in aktive Träger über. Sie "verbrauchen" sich, werden dadurch inaktiviert und sind dann zunächst gegen jede weitere Aktivierung refraktär. Danach erholen sich die Träger und werden wieder in ruhende und verfügbare Träger umgewandelt (siehe auch Text).

Zustandsformen des Transportsystems:

Im Ruhezustand ist die Aktivierung der Träger (Carrier) sehr gering. Es werden keine Na^+ -Ionen transportiert. Die Na^+ -Leitfähigkeit der Membran ist deshalb sehr gering. Die Träger sind für einen Na^+ -Transport in hohem Maße verfügbar.

Nach einer überschwelligten Erregung werden die ruhenden Träger sehr schnell in aktive Träger übergeführt. Da die aktivierten Träger Na^+ -Ionen transportieren können, ist die Na^+ -Leitfähigkeit der erregbaren Membran sehr groß (Depolarisation, Phase 0 in Abb. 29).

Da die Träger sich schnell "verbrauchen", werden sie rasch inaktiviert und können schließlich keine Na^+ -Ionen mehr transportieren; sie sind gegen jede Aktivierung refraktär (Phase 1-3). In dem sich anschließenden "Erholungsvorgang" werden die inaktivierten Träger wieder in ruhende, d.h. aktivierbare umgewandelt (Phase 3-4). Erst wenn aus den inaktivierten Trägern genügend ruhende zur Verfügung stehen, kann eine überschwellige Erregung von neuem eine Depolarisation auslösen.

Für die Größe der Na^+ -Leitfähigkeit der Membran während der einzelnen Phasen des Aktionspotentials haben HODGKIN und HUXLEY (35) folgende Gleichung vorgeschlagen:

$$g_{\text{Na}} = g_{\text{Na}_{\text{Max}}} \cdot m^3 \cdot h$$

Darin sollen die veränderlichen Größen m die Aktivierung und h die Verfügbarkeit des Carriers ausdrücken. Die Variablen m und h können Werte zwischen 0 und 1 annehmen; die Größe $1-h$ kann als Maß für die Inaktivierung des Carriers aufgefaßt werden. VAUGHAN WILLIAMS (72) hat das Na^+ -Transportsystem zur Veranschaulichung von g_{Na} als Kanal betrachtet, der sich aus drei hintereinander geschalteten m -Toren und einem h -Tor zusammensetzt (Abb. 30).

Im Ruhezustand sind die m -Tore verschlossen (zu geringe Aktivierung des Carriers); das h -Tor ist maximal geöffnet (hohe Verfügbarkeit des Carriers). Insgesamt gesehen ist der Na^+ -Kanal also nicht durchgängig; demnach können keine Na^+ -Ionen durch den Kanal hindurchströmen (zu geringe Na^+ -Leitfähigkeit).

Eine hohe Aktivierung des Carriers, d.h. die Öffnung der m -Tore wird durch eine überschwellige Erregung hervorgerufen. Jetzt können Na^+ -Ionen durch den Kanal hindurchfließen und die Membran depolarisieren (hohe Na^+ -Leitfähigkeit).

Die Inaktivierung des Carriers, d.h. der Verschluß des h -Tores, erfolgt sofort mit Beginn der Depolarisation. Die Membran ist bei verschlossenem h -Tor nicht erregbar (fehlende Na^+ -Leitfähigkeit). Sie bleibt solange unerreg-

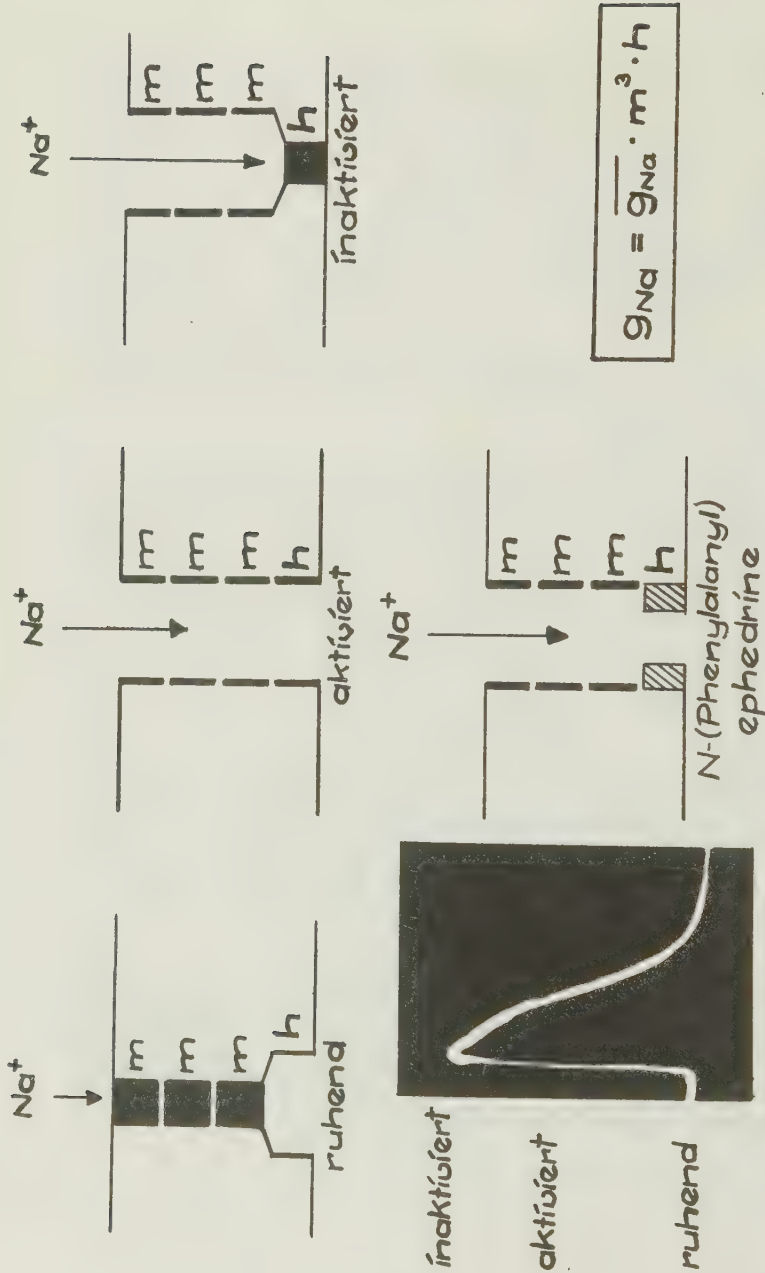


Abb. 30: Zustandsformen des Na^+ -Transportsystems nach VAUGHAN WILLIAMS (72). Stereoisomere N-(Phenylalanyl)ephedrine und -norephedrine hemmen nach den vorliegenden Untersuchungen vermutlich die Öffnung des h-Tores (partielle Inaktivierung des h-Systems).

bar, d.h. refraktär, bis das h-Tor sich nach der Repolarisation der Membran (Erholungsphase) wieder geöffnet hat (Ruhezustand).

Da die Hemmung der Erregungsleitung auf einer verminderten Na^+ -Leitfähigkeit der Membran beruht (55), könnte die Wirkung der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norphedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine dadurch zustande kommen, daß sie die Öffnung des h-Tores in der Erholungsphase hemmen und damit die Verfügbarkeit des Natrium-Transportsystems verzögern. Im Bereich des h-Tores kann sich daher der Na^+ -Kanal während der Erregung nur unvollständig öffnen und stellt somit einen Engpaß und eine Widerstandserhöhung für den Na^+ -Einwärtsstrom während der Depolarisation dar (Abb. 30).

Der erhöhten Na^+ -Leitfähigkeit der Membran während der Erregung liegt vermutlich eine Konformationsänderung von asymmetrischen Strukturproteinen mit den spezifischen Eigenschaften des Ionentransportes zugrunde (21, 42, 73). Es kann deshalb angenommen werden, daß die gehemmte Erregungsleitung unter dem Einfluß der N-(Phenylalanyl)norphedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine durch ihre Bindung an diese Proteinstrukturen zustande kommt, wodurch sie vermutlich deren Konformationsänderung während der Erregung hemmen. Auf diese Weise vermindern sie die Verfügbarkeit des Carriers.

ZUSAMMENFASSUNG

Die diastereomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine DL-nor- Ψ , LL-nor- Ψ , LD-nor und die enantiomeren N-(Phenylalanyl)ephedrine LL/DD, LL- Ψ /DD- Ψ , LD/DL, LD- Ψ /DL- Ψ wurden bei pH 6,4; 7,3 und 8,2 auf ihre erregungshemmenden Eigenschaften am Froschventrikelstreifen (*Rana escul.*) untersucht.

Bei dem physiologischen pH 7,3 zeigen alle N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine eine unterschiedliche Hemmung der Erregungsleitung (LG). Die LG nimmt in Abhängigkeit von der Konzentration und der Einwirkungsdauer ab, bis eine maximale Hemmwirkung erreicht ist. DL und DL- Ψ sind stärker wirksam als LD und LD- Ψ . LL hemmt die LG stärker als DD. Bei LL- Ψ und DD- Ψ sind die Wirkungsunterschiede nicht signifikant. DL-nor- Ψ zeigt eine signifikant stärkere Hemmung der LG als LL-nor- Ψ und LD-nor. Die N-(Phenylalanyl)norephedrine sind den N-(Phenylalanyl)ephedrinen in der erregungshemmenden Wirkung deutlich überlegen.

Sämtliche stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine hemmen bei pH 6,4 und 8,2 die Erregungsleitung verschieden stark. Bei pH 6,4 sind die Substanzen zwischen 79 und 91,5 % als BH^+ ionisiert;

bei pH 8,2 liegt die prozentuale Ionisation nur noch zwischen 7 und 21 %. Mit Ausnahme von LL- Ψ zeigen alle Verbindungen bei pH 8,2 eine stärkere erregungshemmende Wirksamkeit als bei pH 6,4. Die im Aminosäureanteil D-konfigurierten Substanzen hemmen mit Ausnahme von DD sowohl bei pH 6,4 als auch bei pH 8,2 die LG stärker als die L-konfigurierten Isomeren. Die N-(Phenylalanyl)norephedrine zeigen auch im sauren und basischen Prüfbereich eine stärkere Hemmung der LG als die N-(Phenylalanyl)ephedrine. DL-nor- Ψ besitzt die stärkste erregungshemmende Wirkung.

Zur Untersuchung der Zusammenhänge zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften und der erregungshemmenden Wirkung wurden die pK_s -Werte und der Verteilungskoeffizient Q (Lipoidlöslichkeit) der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine bestimmt. Die pK_s -Werte der Substanzen liegen zwischen 6,94 und 7,51. Die Bestimmung des Verteilungskoeffizienten Q ergab Werte, die zwischen 0,25 und 1,92 liegen. Den geringen Unterschieden in den physikalisch-chemischen Eigenschaften stehen ausgeprägte Wirkungsunterschiede der Substanzen gegenüber.

Die verschieden starke Hemmung der LG durch die stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine weist darauf hin, daß sie Wechselbeziehungen mit

asymmetrisch gebauten Membranstrukturen (Strukturproteinen) in der erregbaren Membran eingehen. Dem Erregungsvorgang liegt eine erhöhte Na^+ -Leitfähigkeit der erregbaren Membran zugrunde, die vermutlich durch die Konformationsänderung von asymmetrischen Strukturproteinen mit den spezifischen Eigenschaften des Ionentransportes zustande kommt. Die Hemmung der LG unter dem Einfluß der stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine kann somit durch ihre Bindung an diese Proteinstrukturen erklärt werden, wodurch sie vermutlich deren Konformationsänderung während der Erregung hemmen. Es kann angenommen werden, daß für das Zustandekommen der Wirkung sowohl die protonisierte Aminogruppe als auch hydrophobe Reste des Wirkstoffmoleküls verantwortlich sind. Die Wirkungsunterschiede der diastereomeren und enantiomeren Kationen und Basen könnten dahingehend gedeutet werden, daß die Bindung sowohl des Kations als auch der Base über eine Mehr-Punkte-Beziehung erfolgt. Die protonisierten Moleküle werden dabei über Ionenbindungen ihrer geladenen Aminogruppe mit anionischen Gruppen des Proteins und über hydrophobe Wechselwirkungen ihrer Kohlenwasserstoffreste mit apolaren Membranbereichen verknüpft. Bei den freien Basen liegen dagegen nur hydrophobe Wechselbeziehungen der aromatischen und aliphatischen Reste mit apolaren Resten der Membranproteine vor. Die stärkere

Hemmung der LG durch die Basen beruht vermutlich darauf, daß sie bei den Wechselbeziehungen zur Membranstruktur eine für die hydrophobe Bindung günstigere Konformation einnehmen können als die entsprechenden kationischen Formen. Die stärkere Wirksamkeit der im Phenylalanyl-Rest D-konfigurierten Verbindungen weist auf die dominierende Rolle des Aminosäureanteils bei der Wechselbeziehung mit den Membranstrukturen hin. Die schwächere Hemmung der LG durch die N-(Phenylalanyl)ephedrine im Vergleich zu den N-(Phenylalanyl)norephedrinen könnte damit erklärt werden, daß bei den N-(Phenylalanyl)ephedrinen die Methylgruppe am Stickstoff des Ephedrins eine sterische Hinderung für die Annäherung an die Rezeptorstruktur der Membran darstellt, was zu einem Wirkungsabfall führt.

Die stereoisomeren N-(Phenylalanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine unterscheiden sich nur unwesentlich in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften. Dennoch weisen sie ausgeprägte Wirkungsunterschiede am Froschventrikelstreifen auf. Demnach läßt sich keine Beziehung zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Wirkungsstärke bei den Substanzen herstellen. Dieses Fehlen einer Korrelation zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften und erregungshemmender Wirkung kann als weiterer Beweis dafür gelten, daß die stereoisomeren N-(Phenyl-

alanyl)norephedrine und N-(Phenylalanyl)ephedrine Wechselbeziehungen mit asymmetrischen Strukturproteinen in der erregbaren Membran eingehen.

SUMMARY

The inhibition of conduction velocity by the diastereoisomer N-(Phenylalanyl)norephedrine DL-nor- ψ , LL-nor- ψ , LD-nor and the enantiomeric N-(Phenylalanyl)ephedrine LL/DD, LL- ψ /DD- ψ , LD/DL, LD- ψ /DL- ψ in the frog ventricular cardiac muscle (*Rana escul.*) had been tested at pH 6,4; 7,3 and 8,2.

At physiological pH 7,3 all N-(Phenylalanyl)norephedrine and N-(Phenylalanyl)ephedrine show a different inhibition of conduction velocity (CV). Dependent on the concentration and the effective time, CV decreases until a maximal inhibition is attained. DL and DL- ψ are more effective than LD and LD- ψ . A stronger decrease in CV is induced by LL than by DD. The difference in effectiveness is not significant between LL- ψ and DD- ψ . DL-nor- ψ shows a significantly stronger inhibition of CV than LL-nor- ψ and LD-nor. The N-(Phenylalanyl)norephedrine are distinctly more effective than the N-(Phenylalanyl)ephedrine.

All stereoisomer N-(Phenylalanyl)norephedrine and N-(Phenylalanyl)ephedrine show differences in the inhibition of CV at pH 6,4 and 8,2. At pH 6,4 the substances are ionized between 79 and 91,5 % as BH^+ ; at pH 8,2 the percentage of ionization differs between 7 and 21 %. All substances

except LL- ψ are more effective at pH 8,2 than at pH 6,4. The substances with a D-configured amino acid residue are except DD more efficient than the L-configured isomers both at pH 6,4 and pH 8,2. The efficiency of the N-(Phenylalanyl)norephedrine is greater than that of the N-(Phenylalanyl)ephedrine also in the acid and basic test sphere. DL-nor- ψ shows the strongest inhibition of CV.

In order to find out if the physical and chemical properties are connected with the inhibition of conduction velocity, the pK_a -values and the distribution coefficients Q (lipoid solubility) of the stereoisomer N-(Phenylalanyl)norephedrine and N-(Phenylalanyl)ephedrine had been evaluated. The pK_a -values of the substances differ between 6,94 and 7,51. The values for the distribution coefficient Q move from 0,25 to 1,92. In spite of the slight differences in the physical and chemical properties, marked differences in the inhibition of conduction velocity by the substances are visible.

The differences in the inhibition of conduction velocity by the stereoisomer N-(Phenylalanyl)norephedrine and N-(Phenylalanyl)ephedrine point to the fact that they interact with asymmetrical membrane structures (protein structures) of the excitable membrane. The reason for the

excitability of the membrane is its increased sodium conductance, which presumably comes about by a conformational change of asymmetrical protein structures with the specific properties of ion transport. Consequently the inhibition of CV under the influence of the stereoisomer N-(Phenylalanyl)norephedrine and N-(Phenylalanyl)ephedrine can be explained with their binding to these protein structures. Their conformational change during the excitation is presumably inhibited by the tested compounds. It can be assumed that both the ionized amino group and hydrophobic residues of the molecule are responsible for its efficiency. The differences in the effectiveness between the diastereoisomer and the enantiomeric cations and bases can be interpreted as follows: The cation as well as the base are bound by several taps. The ionized molecules are bound to anionic groups of the protein by ionic bonds of their charged amino group. Moreover they are bound to apolar membrane regions by hydrophobic interactions of their hydrocarbon residues. On the contrary the bases are bound to apolar groups of the membrane proteins only by hydrophobic interactions of their aromatic and aliphatic groups. The stronger inhibition of CV by the bases is presumably based on the fact that they are able to take up more favourable configurations for hydrophobic interactions with the membrane structure than the

corresponding cationic forms. The greater effectiveness of the compounds containing a D-configured phenylalanyl residue can be assumed to be connected with the amino acid residue playing an important role in the interactions with the membrane structures. The smaller degree of inhibition of CV by the N-(Phenylalanyl)ephedrine in comparison with the N-(Phenylalanyl)norephedrine may be explained as follows: The nitrogen-methyl group of the ephedrine residue of the N-(Phenylalanyl)ephedrine represents a steric hindrance for the approach to the receptor structure of the membrane which leads to a decrease in efficiency.

The stereoisomer N-(Phenylalanyl)norephedrine and N-(Phenylalanyl)ephedrine show only unimportant differences between their physical and chemical properties. Nevertheless marked differences of effectiveness in the frog ventricular cardiac muscle are visible. Hence no relation exists between the physical and chemical properties and the efficiency of the substances. This lack of correlation between the physical and chemical properties and the inhibition of conduction velocity is a further proof for the interactions of the stereoisomer N-(Phenylalanyl)norephedrine and N-(Phenylalanyl)ephedrine with asymmetrical protein structures of the excitable membrane.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ANTONI, H. und W. DELIUS:
Nachweis von zwei Komponenten in der Anstiegsphase
des Aktionspotentials von Froschmyocardfasern.
Pflügers Arch. 283, 187 (1965)
- 2 BAMMER, H und K.E. ROTHSCUH:
Über eine Methode zur Messung der Leitungsgeschwindigkeit
der Erregung im Froschherzstreifen zur Prüfung pharmakolo-
gischer Substanzen.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 214, 367 (1952)
- 3 BANGHAM, A.D.:
Physical structure and behavior of lipids and lipid enzymes.
Advan. Lipid Res. 1, 65 (1963)
- 4 BECKETT, A.H.:
Stereochemie und biologische Aktivität.
Angew.Chem. 72, 686 (1960)
- 5 BEELER, G.W. und H. REUTER:
Membrane calcium current in ventricular myocardial fibres.
J. Physiol. (London) 207, 191 (1970)
- 6 BENEDETTI, E.L. und P. EMMELOT:
In: A.J. Dalton and F. Hagenau, The Membranes, Academic
Press, New-York, 1968

- 7 BIANCHI, C.P. und N. LAKSHMINARAYANAIAN:
A model for the regulation of calcium binding in the directly coupled muscle membrane.
Federation Proc. 28, 1624 (1969)
- 8 BLAUSTEIN, M P. und D.E. GOLDMAN:
Action of anionic and cationic nerve-blocking agents: experiment and interpretation.
Science 153, 429 (1966)
- 9 BÜCHI, J., H.K. BRUHIN und X. PERLIA:
Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften, der chemischen Reaktivität und der lokalanästhetischen Wirkung bei einigen 4-substituierten Benzoessäure- β -diäthylamino-äthylestern (Paracaine).
Arzneim.-Forsch. 21, 1003 (1971)
- 10 BÜCHI, J., K.H. HETTERICH und X. PERLIA:
Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution, den physikalisch-chemischen Eigenschaften, der chemischen Reaktivität und der lokalanästhetischen Wirksamkeit in der Iso-Anästhesin-Reihe.
Arzneim.-Forsch. 18, 791 (1968)
- 11 BÜCHI, J. und X. PERLIA:
Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Wirkung von Lokalanästhetica.
Editio Cantor KG, Aulendorf/Württ., 1962
- 12 BÜCHI, J., X. PERLIA und M. TITANI:
Beziehungen zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften, dem Eindringungsvermögen in monomolekulare

Lipoidfilme und der Wirksamkeit der Cinchocaine und einiger Lokalanästhetica.

Arzneim.-Forsch. 21, 2074 (1971)

13 CAVALLI-SFORZA, L.:

Biometrie, Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik.
Fischer-Verlag, Stuttgart, 1969

14 CHAPMAN, D., V.B. KAMAT und R.J. LEVENCE:

Infrared spectra and chain organization of erythrocyte membranes.

Science 160, 314 (1968)

15 CHOULES, G.L. und R.F. BJÖRKLUND:

Evidence of β -structure in Mycoplasma membranes.

Circular dichroism, optical rotatory dispersion and infrared studies.

Biochemistry 9, 4759 (1970)

16 CORABOEUF, E., G. VASSORT, Y.M. GARGOUIL und O. ROUGIER:

Calcium permeability during the action potential of frog and mammalian heart.

Proc. intern. Union Physiol. Sciences VII, 92 (1968)

17 DANIELLI, J.F. und H. DAVSON:

Surface Chemistry and Cell Membranes.

In: J.F. Danielli, K.G.A. Pankhurst and A.C. Riddiford,
Surface Phenomena in Chemistry and Biology, Pergamon
Press, London, New-York, Paris, Los Angeles, 1958

18 DOCUMENTA GEIGY:

Wissenschaftliche Tabellen, 6.Auflage.

Eigenverlag J.R. Geigy, Basel, 1962

- 19 DUDEL, J. und R. RÜDEL:
Hemmung des erregenden Na^+ -Einstromes in die Herzmuskel-
faser durch Tetrodotoxin.
Pflügers Arch. 289, R13 (1966)
- 20 EIGEN, M. und L. DeMAEYER:
Carriers and specifity in membrane.
Neurosciences Res. Progr. Bull. 9, 300 (1971)
- 21 EISENMAN, G.:
Ion permeation of cell membranes and its models.
Federation Proc. 27, 1249 (1968)
- 22 ENDRES, W.:
Zur Synthese stereoisomerer N-(Aminoacyl)phenylalkyl-
amine und N-(Aminoacyl)2,6,dimethylaniline.
Naturw. Diss., München, 1969
- 23 ENGELMAN, D.M., T.M. TERRY und H.J. MOROWITZ:
Characterization of the plasma membrane of Mycoplasma
laidlawii. I. Sodium dodecyl sulfate solubilization.
Biochim. Biophys. Acta 135, 381 (1967)
- 24 FEINSTEIN, M.B.:
Reaction of local anesthetics with phospholipids.
A possible chemical basis for anesthesia.
J.Gen.Physiol. 48, 357 (1964)
- 25 FERNÁNDEZ-MORÁN, H.:
Low-temperature electron microscopy and X-ray diffraction
studies of lipoprotein components in cellular systems.
Circulation 26, 1039 (1962)

- 26 FISHMAN, S.N., V.A. CHERNETKIN und M.V. VOLKENSTEIN:
Role of ion exchange processes in the mechanism of
sodium conductance changes in excitable membranes.
Biochim. Biophys. Acta 298, 710 (1973)
- 27 FUCHSBERGER, K.D.:
Zur Chemie und Pharmakologie stereoisomerer N-Amino-
acylephedrine.
Naturw. Diss. München, 1966
- 28 GLASER, M. und S. SINGER:
Circular dichroism and the conformation of membrane
proteins. Studies with red blood cell membranes.
Biochemistry 10, 1780 (1971)
- 29 GORDON, A.S., D.F.H. WALLACH und J.H. STRAUS:
The optical activity of plasma membranes and its modifi-
cation by lysolecithin, phospholipase A and phospholi-
pase C.
Biochim. Biophys. Acta 183, 405 (1969)
- 30 GORTER, J. und F. GRENDL:
On bimolecular layers of lipoids on the chromocytes of
the blood.
J.Exp.Med. 41, 439 (1925)
- 31 GRAU, H. und P. WÄLTER:
Grundriß der Histologie und vergleichenden mikroskopi-
schen Anatomie der Haussäugetiere.
Parey-Verlag, Berlin-Hamburg, 1967

- 32 GREEN, D.E. und J.F. PERDUE:
Membranes as expressions of repeating units.
Proc.Natl.Acad.Sci. U.S. 55, 1295 (1966)
- 33 HELLENBRECHT, D., B. LEMMER, G. WIETHOLD und H.GROBECKER:
Measurement of hydrophobicity, surface activity, local anesthesia and myocardial conduction velocity as quantitative parameters of the non-specific membrane affinity of nine β -adrenergic blocking agents.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 277, 211 (1973)
- 34 HERR, F.:
Zur Frage der Standardisierung der Prüfung von Lokalanästhetica.
Arzneim.-Forsch. 8, 137 (1958)
- 35 HODGKIN, A.L. und A.F. HUXLEY:
A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.
J. Physiol. (London) 117, 500 (1952)
- 36 KATZ, B.:
Nerv, Muskel und Synapse. Einführung in die Elektrophysiologie.
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1971
- 37 KAUZMAN, W.:
Some factors in the interpretation of protein denaturation.
Advan.Protein Chem. 14, 1 (1959)

- 38 KORN, D.E.:

Current concepts of membrane structure and function.
Federation Proc. 28, 6 (1969)

- 39 KPAUSE, H., H. ANTONI und A. FLECKENSTEIN:

Ein elektronisches Modell für die Bildung lokaler und
fortgeleiteter Erregungen an der Myocardfaser auf der
Grundlage variabler Strom-Spannungs-Kennlinien für K^+
und Na^+ .

Pflügers Arch. 289, 12 (1966)

- 40 KREUTZ, W.:

X-ray structure research on the photosynthetic membrane.
Advan. Bot. Res. 3, 54 (1970)

- 41 KREUTZ, W.:

Strukturprinzipien in Biomembranen.
Angew. Chem. 84, 607 (1972)

- 42 LEHNINGER, A.L.:

Metabolite carriers in mitochondrial membranes: The Ca^{2+}
transport system. In: D.F.H. Wallach and H. Fischer, The
Dynamic Structure of Cell Membranes, Springer-Verlag,
Berlin-Heidelberg-New York, 1971

- 43 MASCHER, D. und K. PEPER:

Two components of inward current in myocardial muscle
fibres.

Pflügers Arch. 307, 190 (1969)

- 44 McLAUGHLIN, S.G.A., G. SZABO und G. EISENMAN:
Divalent ions and the surface potential of charged
phospholipid membranes.
J. Gen. Physiol. 58, 667 (1971)
- 45 MURALT, A. von:
Das Natrium Transportsystem. In: A.v.Muralt, Neue Ergeb-
nisse der Nervenphysiologie, Springer-Verlag, Berlin-
Göttingen-Heidelberg, 1958
- 46 NACHMANSOHN, D.:
Proteins of excitable membranes.
J. Gen. Physiol. 54, 187 (1969)
- 47 NÉMETHY, G.:
Hydrophobe Wechselwirkungen.
Angew. Chem. 79, 260 (1967)
- 48 NILSSON, S.E.G.:
Receptor cell outer segment development and ultra-
structure of the disc membranes in the retina of the
tadpole.
J. Ultrastruct. Res. 11, 581 (1964)
- 49 NILSSON, S.E.G.:
The ultrastructure of the receptor outer segments in
the retina of the leopard frog (*Rana pipiens*).
J. Ultrastruct. Res. 12, 207 (1965)
- 50 PAES DE CARVALHO, B.F. HOFFMAN und W.B. LANGAN:
Two components of the cardiac action potential.
Nature 211, 938 (1966)

- 51 PERUTZ, M.F., J.D. KENDREW und H.C. WATSON:
Structure and function of haemoglobin. II. Some relations between polypeptide chain configuration and amino acid sequence.
J. Mol. Biol. 13, 669 (1965)
- 52 PETTER, A.:
Elektrophysiologie der Herzirregularitäten und ihre pharmakologische Beeinflussung.
Zbl. Veterinärmed. A 10, 576 (1963)
- 53 PETTER, A., H. SCHÖNENBERGER und W. ZWEZ:
Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Lokalanästhetica. 4.Mitt.: Zusammenhänge zwischen Lipoidlöslichkeit und biologischer Wirkung bei diastereomeren N(N-Dimethylphenylalanyl)ephedrinen. Untersuchungen zum Nachweis asymmetrischer Membranstrukturen als Wirkort von Lokalanästhetica.
Pharmazie 27, 524 (1972)
- 54 PETTER, A., H. SCHÖNENBERGER und W. ZWEZ:
Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Lokalanästhetica. 2.Mitt.: Nachweis der unterschiedlichen Wirkung enantiomerer Lokalanästhetica.
Pharmazie 27, 250 (1972)
- 55 PETTER, A., H. SCHÖNENBERGER und W. ZWEZ:
Zur lokalanästhetischen Wirkungsweise von Cinchocain-Homologen.
Arzneim.-Forsch. 20, 1538 (1970)

- 56 REUTER, H.:

Calcium transport in cardiac muscle. In: L. Bolis, Permeability and Function of Biological Membranes, North Holland Publishing Comp., London-Amsterdam, 1970

- 57 ROUGIER, O., G. VASSORT, D. GARNIER, Y.M. GARGOUIL und E. CORABOEUF:

Existence and role of a slow inward current during the frog atrial action potential.

Pflügers Arch. 308, 91 (1969)

- 58 SALTON, M.R.J. und M.J. SCHMITT:

Separation of lipids from proteins and cell membranes by disc electrophoresis.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 27, 529 (1967)

- 59 SCHMITT, F.O.:

Molecular membranology. In: D.F.H. Wallach and H. Fischer, The Dynamic Structure of Cell Membranes, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1971

- 60 SCHÖNENBERGER, H., K.D. FUCHSBERGER, A. PETTER und R. BRINKMANN:

Wechselbeziehungen zwischen Wirkstoff und Rezeptor bei lokalanästhetisch wirksamen N-Aminoacylphenedrinen.

Pharm. Acta Helvet. 42, 163 (1967)

- 61 SCHÖNENBERGER, H., A. PETTER und W. ZWEZ:

Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Lokalanästhetica. 3.Mitt.: Zusammenhänge zwischen Lipoidlöslichkeit und biologischer Wirkung bei homologen Lokalanästhetica. Pharmazie 27, 522 (1972)

- 62 SCHÖNENBERGER, H., A. PETTER und W. ZWEZ:
Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Lokalanästhetica. 1.Mitt.: Wirkungstheorien, Fragestellungen, Lösungswege.
Pharmazie 27, 246 (1972)
- 63 SEEMAN, P.:
Erythrocyte membrane stabilization by local anesthetics and other drugs.
Biochem. Pharmacol. 15, 1753 (1966)
- 64 SJÖSTRAND, F.S. und L. BARAJAS:
Effect of modification in conformation of protein molecules on structure of mitochondrial membranes.
J. Ultrastruct. Res. 25, 121 (1968)
- 65 SONNENBERG, M.:
Interaction of human growth hormone and human erythrocyte membranes as demonstrated by circular dichroism.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 36, 450 (1969)
- 66 STALEY, N.A. und E.S. BENSON:
The ultrastructure of frog ventricular cardiac muscle and its relationship to mechanisms of excitation-contraction coupling.
J. Cell Biol. 38, 99 (1968)
- 67 STÄMPFLI, R.:
Der Erregungsvorgang und seine Fortleitung.
Klin. Wschr. 49, 777 (1971)

- 68 STOFFEL, W.:

Zur Feinstruktur von Membranen tierischer Zellen.
Arzneim.-Forsch. 19, 253 (1969)

- 69 STÖHR, P., W.v. MÖLLENDORF und G. GOERTTLER:

Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen.
Fischer-Verlag, Stuttgart, 1969

- 70 VAN BREEMEN, D. und C. VAN BREEMEN:

Calcium exchange diffusion in a porous phospholipid ion-exchange-membrane.
Nature 223, 898 (1969)

- 71 VASSORT, G. und O. ROUGIER:

Membrane potential and slow inward current dependence of frog cardiac mechanical activity.
Pflügers Arch. 331, 191 (1972)

- 72 VAUGHAN WILLIAMS, E.M.:

Classification of antiarrhythmic drugs. Symposium on Cardiac Arrhythmias, Elsinore 1970. AB Astra, Södertälje, 1970

- 73 WALLACH, D.F.H.:

Membrane models and model membranes. In: D.F.H. Wallach, The Plasma Membrane: Dynamic Perspectives, Genetics and Pathology, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1972

- 74 WALLACH, D.F.H. und A. GORDON:

Lipid-protein interactions in cellular membranes.
Federation Proc. 27, 1263 (1967)

- 75 WEIDMANN, S.:

The effect of cardiac membrane potential on the rapid
availability of the sodium carrying system.
J. Physiol. (London) 127, 213 (1955)

- 76 WEIDMANN, S.:

Cardiac electrophysiology in the light of recent mor-
phological findings.
The Harvey Lectures, Series 61, 1-15. Academic Press,
New York, 1967

- 77 WEIDMANN, S.:

Elektrophysiologie der Herzmuskelfaser.
Huber-Verlag, Bern-Stuttgart, 1956

- 78 WEIDMANN, S.:

Cardiac electrophysiology in the light of recent mor-
phological findings.
The Harvey Lectures, Series 61, 12. Academic Press,
New York, 1967

- 79 WINNE, D.:

Die Funktionen der Zelle.
Mitt. Dtsch. Pharmaz. Ges. 36, 205 (1966)

- 80 WRIGHT, E.B. und M. OGATA:

Action potential of amphibian single auricular muscle fibre: A dual response.

Amer. J. Physiol. 201, 1101 (1964)

- 81 ZIPF, H.F.:

Die Wirkungsmechanismen der Lokalanästhetica.

Pharm. Acta Helvet. 42, 480 (1967)

- 82 ZWEZ, W.:

Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Lokalanästhetica.

Naturw. Diss. München, 1970

Herrn Prof. Dr. J. Kalich, dem komm. Vorstand des Institutes für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München danke ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes.

Herrn Prof. Dr. A. Petter gilt mein Dank für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H. Schönenberger, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, danke ich für die freundliche Überlassung der Substanzen.



Lebenslauf

Hans-Joachim Servatius: geb. am 17. Mai 1947 in Landscheid

Eltern: Wilhelm Servatius, Fleischermeister
Elisabeth Servatius, geb. Jung

Schulbildung: Eintritt in die Volksschule Landscheid 1953
Reifeprüfung am Staatlichen Cusanusgymnasium Wittlich 1966

Hochschule: Studium der Tiermedizin an der Universität München von 1967 bis 1972
Tierärztliches Staatsexamen am 27. September 1972
Bestallung als Tierarzt am 14. November 1972

